

**Untersuchungen zur Wirksamkeit insektenpathogener Pilze gegen die vorratsschädlichen
Motten**

Ephestia kuehniella* und *Plodia interpunctella
(*Lepidoptera: Pyralidae*)



Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor rerum agriculturarum
(Dr. rer. agr.)

eingereicht an der
Landwirtschaftlich - Gärtnerischen Fakultät
der Humboldt - Universität zu Berlin

von
Diplom-Agraringenieur **Reinhard Bischoff**
geboren am 11.09.1966 in Cottbus

Präsident
der Humboldt - Universität zu Berlin
Prof. Dr. Dr. h.c. Hans Meyer

Dekan
der Landwirtschaftlich - Gärtnerischen Fakultät
Prof. Dr. Dr. h.c. Ernst Lindemann

Gutachter 1. Prof. Dr. Dr. h.c. Helmut Bochow
2. Prof. Dr. Christoph Reichmuth

Tag der mündlichen Prüfung: 05.Juni 1998

Herrn Prof. Dr. F. A. Schulz [†] gewidmet

Abstrakt

In der vorliegenden Arbeit wurden anhand von Labor- und praxisnahen Flugversuchen die Möglichkeiten der biologischen Bekämpfung der Dörrobstmotte, *Plodia interpunctella* HÜBNER, und der Mehlmotte, *Ephesia kuehniella* (ZELLER), mit entomopathogenen Pilzen der Ordnung *Hyphomycetales* untersucht. Getestet wurden Pilzstämme von *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces farinosus* und *Paecilomyces fumosoroseus*.

Hauptgegenstand der experimentellen Arbeit war die Untersuchung verschiedener Einflußfaktoren auf die Wirksamkeit der Pilze unter Lagerbedingungen unter besonderer Berücksichtigung des Auftretens von Wechselwirkungen zwischen Erreger, Wirtsinsekt und Umwelt.

Die Stammeigenschaften der getesteten Pilze wurden neben den herrschenden Umweltbedingungen als ein Hauptfaktor identifiziert, der die Wirksamkeit des Einsatzes entomopathogener Pilze gegen vorratsschädliche Motten entscheidend beeinflußt. Darüber hinaus sind der Ernährungszustand der Pilze, die Anfälligkeit der Wirtsinsekten sowie die Inokulumdichte verantwortlich für das Zustandekommen bedeutsamer Bekämpfungseffekte.

Für eine praktische Nutzung wurden als mögliche Anwendungstechnologien die Kontamination von Verpackungen, die Behandlung von Fraß- bzw. Brutsubstrat unter Ausnutzung deren Lockwirkung sowie die Verwendung pheromonbeköderter Kontaminationsherde untersucht. Herausgestellt werden konnte, daß für nachhaltige kurative Bekämpfungserfolge die Dichte von *P. interpunctella* im Lager gering sein muß.

Die Verwendung von pheromonbeködeten Kontaminationsherden führte bei über 50% der Weibchen und etwa 80% der Männchen von *P. interpunctella* zur Inokulation und kann somit die Effizienz entomopathogener Pilze im Vorratsschutz erhöhen.

Schlüsselwörter: insektenpathogene Pilze, *Plodia interpunctella*, *Ephesia kuehniella*, Virulenz

Abstract

Strains of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces farinosus* and *Paecilomyces fumosoroseus* were tested against the stored product infesting moths *Plodia interpunctella* HÜBNER, and *Ephesia kuehniella* (ZELLER).

The potential of the strains was assessed by conducting experiments investigating the different factors influencing their effectiveness under stored conditions.

The quality of virulence and the environmental conditions are the main factors for a successful use of entomopathogenic fungi. Furthermore, the nutritional state of the fungi, the susceptibility of the moths and the density of inoculum influence the effect of a fungi treatment.

The contamination of packing, the treatment of food and the use of contaminated TDA pheromone traps was assessed for a practical method.

The control of *P. interpunctella* is successful with low population density of moths.

The inoculation of *Plodia interpunctella* males and females showed that the combined action of pheromone and fungi spores could serve as potential method in the biological control of stored product infesting moths.

Key-words: entomopathogenic fungi, *Plodia interpunctella*, *Ephesia kuehniella*, virulence

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Verzeichnis der Abkürzungen	I
Verzeichnis der Text - Tabellen	II
Verzeichnis der Text - Abbildungen	III
Verzeichnis der Anhang - Abbildungen	VI
Verzeichnis der Anhang - Tabellen	VII
1 Einleitung	1
2 Literaturübersicht	3
3 Aufgabenstellung	17
4 Material und Methoden	18
4.1 Anzucht der Wirtstiere	18
4.2 Untersuchungen zur Pathogenität geeigneter Pilzstämme	18
4.3 Untersuchungen zur Virulenz entomopathogener Pilzstämme	20
4.4 Einfluß der Inokulumdichte auf die Wirksamkeit der Pilze	26
4.5 Untersuchungen zur Wirksamkeit entomopathogener Pilze auf Eier sowie Larvenstadien von <i>P. interpunctella</i>	27
4.6 Einfluß der Sporenformulierung auf die Wirksamkeit der Pilze	29
4.7 Einsatzerprobungen von <i>B. bassiana</i> 56, <i>M. anisopliae</i> 110 und <i>P. fumoso-roseus</i> 10 gegen <i>P. interpunctella</i>	33
4.7.1 Untersuchungen zur Wirkung der Pilze auf die Fekundität, Eier und schlüpfende Eilarven sowie auf die Schlupfrate, Lebensdauer und Fekundität der Imagines von <i>P. interpunctella</i> nach Applikation auf die Brutsubstratoberfläche	33
4.7.2 Untersuchungen zur Wirkung einer Konidienanwendung nach Beimischung zum Brutsubstrat einschließlich einer Ausnutzung der Lockwirkung geeigneten Substrates	35
4.7.3 Untersuchungen zur Wirkung einer Konidienanwendung nach Oberflächenbehandlung von Verpackungsmaterial	37
4.7.4 Untersuchungen zur Übertragung der Konidien von <i>M. anisopliae</i> 110 unter Ausnutzung der Lockwirkung von Sexualpheromonen der Dörrobstmotte	38

5	Ergebnisse	40
5.1	Zur Pathogenität geeigneter Pilzstämme	40
5.2	Zur Virulenz entomopathogener Pilzstämme	44
5.2.1	Virulenz in Abhängigkeit von Pilzstamm und Wirtsart	44
5.2.2	Virulenz in Abhängigkeit von ökologischen Infektionsbedingungen	47
5.2.2.1	Einfluß der Temperatur	47
5.2.2.2	Einfluß der relativen Luftfeuchtigkeit	49
5.2.3	Virulenz in Abhängigkeit vom Ernährungszustand des Pilzes	51
5.3	Einfluß der Inokulumdichte auf die Wirksamkeit der Pilze	55
5.4	Wirksamkeit entomopathogener Pilze auf die Eier von <i>P. interpunctella</i>	57
5.5	Altersbedingte Sensitivität der Larvenstadien von <i>P. interpunctella</i> gegenüber virulenten Pilzstämmen	59
5.6	Einfluß der Sporenformulierung auf die Wirksamkeit der Pilze	61
5.6.1	Einfluß auf die Infektiosität der Pilze	61
5.6.2	Einfluß auf die Lagerfähigkeit und Persistenz der Konidien von <i>B. bassiana</i> 56 und <i>M. anisopliae</i> 110	69
5.7	Einsatzerprobungen von <i>B. bassiana</i> 56, <i>M. anisopliae</i> 110 und <i>P. fumosoroseus</i> 10 gegen <i>P. interpunctella</i>	73
5.7.1	Wirkung der Pilze auf die Fekundität, Eier und schlüpfende Eilarven von <i>P. interpunctella</i>	73
5.7.2	Wirkung der Pilze auf die Schlupfrate, Lebensdauer und Fekundität der Imagines von <i>P. interpunctella</i> nach Kontamination der Brutsubstratoberfläche	77
5.7.3	Wirkung der Pilze nach Beimischung zum Brutsubstrat	79
5.7.4	Wirksamkeit einer Pilzbehandlung unter Ausnutzung der Lockwirkung eines geeigneten Brutsubstrates	80
5.7.5	Wirkung einer Konidienanwendung nach Oberflächenbehandlung von Verpackungsmaterial	82
5.7.6	Übertragung der Konidien von <i>M. anisopliae</i> 110 unter Ausnutzung der Lockwirkung von Sexualpheromonen der Dörrobstmotte	84
6	Diskussion	86
6.1	Beziehungen zwischen Wirt, Erreger und Umwelt	86
6.2	Einsatzerprobungen entomopathogener Pilze	98
7	Schlußfolgerungen	106
8	Zusammenfassung	108

9 Literaturverzeichnis

Anhang

Selbständigkeitserklärung

Danksagung

Verzeichnis der Abkürzungen

<i>aqua dest.:</i>	Destilliertes Wasser
B.ba.56:	<i>Beauveria bassiana</i> 56
B.ba.112:	<i>Beauveria bassiana</i> 112
Beh:	Behandlung
B.t.:	<i>Bacillus thuringiensis</i>
CzD Gluc:	Czapek Dox Glucose Agar
CzD Glyc:	Czapek Dox Glycerol Agar
DC	Dünnschichtchromatograph
ger.:	geröstet
HFA:	Haferflockenagar
K:	Kontrolle
LD ₅₀ :	Letal Dosis 50%
LD ₉₀ :	Letal Dosis 90%
LT ₅₀ :	Letal Time 50%
LT ₉₀ :	Letal Time 90%
LPA:	Laktose Pepton Agar
M.a.73:	<i>Metarhizium anisopliae</i> 73
M.a.110:	<i>Metarhizium anisopliae</i> 110
Max.:	Maximalwert
M. bruch:	Mandelbruch
M. mehl:	Mandelmehl
Min.:	Minimalwert
MPA:	Biomalz Pepton Agar
n:	Anzahl der Beobachtungen
Paec.f.34:	<i>Paecilomyces farinosus</i> 34
Paec.f.10:	<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> 10
r.F.:	relative Luftfeuchtigkeit
Riba Gluc:	Riba Glucose Agar
Riba Sacch:	Riba Saccharose Agar
sign.:	signifikant
Sp.:	Sporen
SPA:	Saccharose Pepton Agar
TDA:	(Z, E)-9,12-Tetradecadienylacetat
Tg ₅₀ :	Time germination 50%
Tg ₉₀ :	Time germination 90%
verp.:	verpackt

Verzeichnis der Text - Tabellen

- Tab. 1: Entwicklung von *P. interpunctella* an verschiedenen Rohstoffen (nach HOPPE 1981)
- Tab. 2: Ursprung der im Verlauf der Untersuchungen verwendeten Pilzstämmen
- Tab. 3: Charakterisierung der in den Untersuchungen getesteten Nährböden
- Tab. 4: Vergleich entomopathogener Pilzstämmen hinsichtlich der von ihnen verursachten Mortalitätsraten bei Imagines von *E. kuehniella* und *P. interpunctella* (Chi²-Test / 2 x 2 Kontingenztafelanalyse für $\alpha = 0,05$)
- Tab. 5: Einfluß der Nährbodenzusammensetzung auf die Sporulation entomopathogener Pilze (21 Tage Inkubation, 8 Wiederholungen)
- Tab. 6: Einfluß der Nährbodenzusammensetzung auf die Virulenz entomopathogener Pilze gegenüber *E. kuehniella* und *P. interpunctella*
- Tab. 7: Vergleich der Wirksamkeit unterschiedlich dosierter Pilzstämmen gegenüber Imagines von *P. interpunctella* (Chi² - Test / 2x2 Kontingenztafelanalyse, $\alpha = 0,5$)
- Tab. 8: Vergleich der Sensitivität verschieden alter Dörrobstmottenlarven gegenüber entomopathogenen Pilzen (angenäherter 95%-Vertrauensbereich, $\alpha=5\%$)
- Tab. 9: Vergleich der Wirksamkeit unterschiedlich formulierter M.a.110-Konidien hinsichtlich der von ihnen verursachten Mortalitätsraten bei frisch geschlüpften Imagines von *P. interpunctella* in Abhängigkeit von der Sporendosierung (Chi²-Test / 2 x 2 Kontingenztafelanalyse, $\alpha = 0,05$)
- Tab.10: Vergleich der Wirksamkeit unterschiedlich formulierter B.ba.56 Konidien hinsichtlich der von ihnen verursachten Mortalitätsraten bei frisch geschlüpften Imagines von *P. interpunctella* in Abhängigkeit von der Sporendosierung (Chi²-Test / 2 x 2 Kontingenztafelanalyse, $\alpha = 0,05$)
- Tab. 11: Einfluß der Formulierung auf die Wirksamkeit insektenpathogener Pilze gegenüber L₅-Larven von *P. interpunctella* in Abhängigkeit von der relativen Luftfeuchtigkeit
- Tab. 12: Keimprozent der Konidien von *M. anisopliae* 110 in Abhängigkeit von der Formulierung und der Lagerzeit
- Tab. 13: Keimprozent der Konidien von *B. bassiana* 56 in Abhängigkeit von der Formulierung und der Lagerzeit
- Tab. 14: Auswirkung einer Pilzbehandlung auf das Überleben der Eilarven von *Plodia interpunctella*
- Tab. 15: Entwicklung der Imagines von *P. interpunctella* nach Schlupf aus Brutsubstrat mit unterschiedlicher Oberflächenbehandlung
- Tab. 16: Einfluß der Pilz Behandlung der Substratoberfläche auf die Fekundität schlüpfender Weibchen sowie die Eimortalität
- Tab. 17: Wirkung der dem Brutsubstrat beigemischter Konidien von *M. anisopliae* 110 und *B. bassiana* 56 auf die Schlupfrate der Imagines von *P. interpunctella*
- Tab. 18: Vergleich entomopathogener Pilzstämmen hinsichtlich ihrer Wirkung auf die präimaginale Entwicklung von *P. interpunctella* nach Beimischung zum Brutsubstrat (Chi²-Test / 2 x 2 Kontingenztafelanalyse, für $\alpha = 0,05$)
- Tab. 19: Wirksamkeit Pilz behandelte Brutsubstratköder auf die Populationsentwicklung von *P. interunctella*
- Tab. 20: Wirksamkeit einer Pilzbehandlung von Verpackungsmaterial auf die Entwicklung von *Plodia interpunctella*

Verzeichnis der Text - Abbildungen

- Abb.1: Mortalität adulter *Ephestia kuehniella* nach Inokulation entomopathogener Pilze
- Abb.2: Mortalität adulter *Plodia interpunctella* nach Inokulation entomopathogener Pilze
- Abb.3 : Hyphen und Konidien von *Metarhizium anisopliae* auf dem Femur von *Ephestia kuehniella* (Vergrößerung:3000-fach)
- Abb.4: Hyphen von *Metarhizium anisopliae* am Kopf von *Ephestia kuehniella* (Vergrößerung: 100-fach)
- Abb.5: Durch *Paecilomyces fumosoroseus* abgetötetes Imago von *Ephestia kuehniella* (natürliche Größe 10 - 14 mm)
- Abb.6: Durch *Metarhizium anisopliae* abgetötetes Imago von *Ephestia kuehniella* (natürliche Größe 10-14 mm)
- Abb.7: Anteil der Imagines von *E. kuehniella* und *P. interpunctella* mit nachgewiesenem Befall nach indirekter Inokulation von Konidien verschiedener entomopathogener Pilzstämme
- Abb.8: Mortalität bei Imagines von *E. kuehniella* und *P. interpunctella* nach künstlicher Inokulation unterschiedlicher entomopathogener Pilze
- Abb.9: Keimungsprozente insektenpathogener Pilze in Abhängigkeit von der Inkubations-temperatur (Inkubationszeit: 36h)
- Abb.10: Einfluß der Inkubationstemperatur auf die Keimungsgeschwindigkeit von Konidien insektenpathogener Pilze
- Abb.11: Einfluß der relativen Luftfeuchtigkeit auf die Virulenz entomopathogener Pilzstämme
- Abb.12: Pilzstamm bedingte LT_{90} -Werte bei Dörrobstmottenimagines in Abhängigkeit von der verwendeten Sporenkonzentration der Tauchsuspension
- Abb.13: Einfluß der Sporenkonzentration auf die Wirksamkeit verschiedener Pilzstämme gegenüber Imagines von *P. interpunctella*
- Abb.14: Einfluß einer Behandlung der Eier von *P. interpunctella* mit *M. anisopliae* 110 in Abhängigkeit von der Inokulumdichte und der Temperatur
- Abb.15: Einfluß einer Behandlung der Eier von *P. interpunctella* mit *B. bassiana* 56 in Abhängigkeit von der Inokulumdichte und der Temperatur
- Abb.16: Einfluß einer Behandlung der Eier von *P. interpunctella* mit *P. fumosoroseus* 10 in Abhängigkeit von der Inokulumdichte und der Temperatur

- Abb.17: Wechselwirkungen zwischen Pilzbehandlung und Inokulumdichte
- Abb.18: Wirkungsgrad insektenpathogener Pilze gegenüber Larven von *P. interpunctella* bei künstlicher Inokulation von 10^7 Sporen / ml (berechnet nach SCHNEIDER-ORELLI)
- Abb.19: LT_{50} - und LT_{90} -Werte unterschiedlich formulierter Pilzstämme gegenüber Dörr-obstmottenimagines nach indirekter Inokulation von 2×10^6 Sp / cm^2
- Abb.20: Einfluß der Formulierung auf die Wirksamkeit von *B. bassiana* 56 gegenüber L_1 der Dörrobstmotte in Abhängigkeit von der Sporendosierung
- Abb.21: Einfluß der Formulierung auf die Wirksamkeit von *M. anisopliae* 110 gegenüber L_1 der Dörrobstmotte in Abhängigkeit von der Sporendosierung
- Abb.22: Einfluß der Formulierung auf die Wirksamkeit von *B. bassiana* 56 gegenüber L_5 der Dörrobstmotte in Abhängigkeit von der Sporendosierung
- Abb.23: Einfluß der Formulierung auf die Wirksamkeit von *M. anisopliae* 110 gegenüber L_5 der Dörrobstmotte in Abhängigkeit von der Sporendosierung
- Abb.24: Einfluß der Sporendosierung auf die Mortalität der L_5 -Larven von *P. interpunctella* nach direkter Applikation unterschiedlich formulierter *B. bassiana* 56 Konidien bei 76% relativer Luftfeuchtigkeit
- Abb.25: Einfluß der Sporendosierung auf die Mortalität der L_5 -Larven von *P. interpunctella* nach direkter Applikation unterschiedlich formulierter *B. bassiana* 56 Konidien bei 96% relativer Luftfeuchtigkeit
- Abb.26: Einfluß der Sporendosierung auf die Mortalität der L_5 -Larven von *P. interpunctella* nach direkter Applikation unterschiedlich formulierter *M. anisopliae* 110 Konidien bei 76% relativer Luftfeuchtigkeit
- Abb.27: Einfluß der Sporendosierung auf die Mortalität der L_5 -Larven von *P. interpunctella* nach direkter Applikation unterschiedlich formulierter *M. anisopliae* 110 Konidien bei 96% relativer Luftfeuchtigkeit
- Abb.28: Einfluß der Formulierung auf die Persistenz der Konidien von *Metarhizium anisopliae* 110 in Abhängigkeit von der Zeit
- Abb.29: Einfluß der Formulierung auf die Persistenz der Konidien von *Beauveria bassiana* 56 in Abhängigkeit von der Zeit
- Abb.30: Empirische Verteilung der Eiablage unterschiedlich Pilz behandelter Weibchen von *P. interpunctella* (signifikante Differenzen zwischen Mittelwerten mit verschiedenen Indizes für $\alpha = 0,5$, $n = 8$)
- Abb.31: Tägliche Eiablage von Dörrobstmotten in Abhängigkeit von der Pilzbehandlung (kumulative Werte)

- Abb.32: Eimortalität von *P. interpunctella* nach Oviposition auf Pilz behandeltem Untergrund (signifikante Differenzen zwischen Werten mit verschiedenen Indizes)
- Abb.33: Einfluß einer Oberflächenbehandlung von Brutsubstrat auf die Schlupftermine der Imagines von *P. interpunctella*
- Abb.34: Einfluß der Oberflächenbehandlung von Brutsubstrat auf die Schlupfrate der Imagines von *P. interpunctella*
- Abb.35: Wechselwirkungen zwischen der Schaderregerdichte und der Behandlung von Verpackungsmaterial mit entomopathogenen Pilzen
- Abb.36: Übertragung der Konidien von *M. anisopliae* 110 auf Imagines der Dörrobstmotte unter Verwendung der Lockwirkung von Sexualpheromonen

Verzeichnis der Anhang - Abbildungen

Abb. A-1: Pilzstamm bedingte LT_{50} - Werte behandelter Imagines von *P. interpunctella* in Abhängigkeit von der verwendeten Sporenkonzentration der Tauchsuspension

Abb. A-2: Empirische Verteilung der Sporulation entomopathogener Pilze in Abhängigkeit von der Nährbodenzusammensetzung

Verzeichnis der Anhang - Tabellen

- Tab. A-1: Vergleich der Wirksamkeit unterschiedlich formulierter B.ba.56 Konidien hinsichtlich der von ihnen verursachten Mortalitätsraten bei Larven des L₁-Stadiums von *P. interpunctella* in Abhängigkeit von der Sporendosierung (Chi² Test / 2 x 2 Kontingenztafelanalyse, $\alpha = 0,5$)
- Tab. A-2: Vergleich der Wirksamkeit unterschiedlich formulierter M.a.110 Konidien hinsichtlich der von ihnen verursachten Mortalitätsraten bei Larven des L₁-Stadiums von *P. interpunctella* in Abhängigkeit von der Sporendosierung (Chi² Test / 2 x 2 Kontingenztafelanalyse, $\alpha = 0,5$)
- Tab. A-3: Vergleich der Wirksamkeit unterschiedlich formulierter B.ba.56 Konidien hinsichtlich der von ihnen verursachten Mortalitätsraten bei Larven des L₅-Stadiums von *P. interpunctella* in Abhängigkeit von der Sporendosierung (Chi² Test / 2 x 2 Kontingenztafelanalyse, $\alpha = 0,5$)
- Tab. A-4: Vergleich der Wirksamkeit unterschiedlich formulierter M.a.110 Konidien hinsichtlich der von ihnen verursachten Mortalitätsraten bei Larven des L₅-Stadiums von *P. interpunctella* in Abhängigkeit von der Sporendosierung (Chi² Test / 2 x 2 Kontingenztafelanalyse, $\alpha = 0,5$)
- Tab.A-5: Vergleich der Wirksamkeit unterschiedlicher Pilze nach Oberflächenbehandlung von Brutsubstrat hinsichtlich der Schlupfraten der Imagines von *P. interpunctella* (Chi² - Test / 2 x 2 Kontingenztafelanalyse, $\alpha = 0,5$)
- Tab.A-6: Vergleich der Wirksamkeit unterschiedlicher Pilze nach Oberflächenbehandlung von Brutsubstrat hinsichtlich der Verpilzungsrate geschlüpfter Falter von *P. interpunctella* (Chi² - Test / 2 x 2 Kontingenztafelanalyse, $\alpha = 0,5$)

1 Einleitung

Vorräte befallende Insekten der Ordnung *Lepidoptera* gehören in zahlreichen Regionen der Erde zu bedeutenden Vorratsschädlingen. Aufgrund der langsameren Entwicklung dieser Tiere in gemäßigten Breiten und wegen intensiverer Vorratsschutzmaßnahmen treten in Industrieländern meist geringere Fraßverluste auf als in tropischen Regionen. Es entsteht jedoch häufig großer finanzieller Schaden durch die Spinnfähigkeit der Raupen. So kommt es bereits bei schwachem Befall zu erheblichen technischen Störungen in Mühlenbetrieben.

Vorratsschädliche Motten sind häufig extrem polyphag und befallen neben gelagertem Getreide, getrocknetem Obst, Kakaobohnen und Nüssen auch hochwertige Verkaufsprodukte wie Süßwaren und Dauerbackwaren. Bis zum Verkauf an den Verbraucher können sich die abgelegten Motteneier bei einer Zwischenlagerzeit von vier bis sechs Wochen zu großen Larven entwickeln, die an den Lebensmitteln fressen und diese mit ihren Exkrementen, Exuvien und Gespinsten verunreinigen. Insektenbefallene Lebensmittelpackungen führen somit neben dem finanziellen Verlust bei Reklamationen meist zu wesentlich größerem Schaden durch Verlust an Gebrauchswert.

Die zur Bekämpfung dieser Schadinsekten bisher übliche chemische Behandlung erfordert zusätzliche finanzielle Aufwendungen und beeinträchtigt den Betriebsablauf, da Bekämpfungsmaßnahmen zu einer Unterbrechung des Produktionsbetriebes führen. Darüber hinaus kann eine Behandlung mit Fraß- oder Kontaktinsektiziden bei unsachgemäßer Durchführung zu Überschreitungen der in der Rückstandshöchstmengen Verordnung festgelegten Werte führen und das Lagergut so mit chemischen Rückständen belasten. Der Einsatz von Insektiziden auf Lebensmitteln und an verpackter Ware wird dadurch besonders erschwert.

Die Suche nach Auswegen aus einer zu einseitig auf chemische Wirkstoffe ausgerichteten Bekämpfungsstrategie führte in letzter Zeit zu einer verstärkten Hinwendung auf biologische Verfahren zur wirksamen Kontrolle der Motten. Obwohl Vorratslager normalerweise einen artenarmen Lebensraum darstellen, wurden bisher eine größere Anzahl natürlicher Gegenspieler aufgefunden, die potentiell für die biologische Bekämpfung vorratsschädlicher Motten eingesetzt werden können.

Die vorliegende Arbeit untersucht die Möglichkeiten einer biologischen Bekämpfung mittels entomopathogener Pilze und ist gleichzeitig Bestandteil eines umfangreicheren Forschungsprogrammes, welches am Institut für Vorratsschutz der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft realisiert wird.

2 Literaturübersicht

Vorratsschädliche Motten gehören zu den tierischen Hauptschaderregern im Lebensmittellager. Es handelt sich um eine größere Anzahl wirtschaftlich bedeutender Arten, von denen mehrere in Folge ihrer Verbreitung mit dem Handel heute in fast allen Erdteilen gefunden werden (WILLIAMS 1964). Ursprünglich in wärmeren Gebieten beheimatet, haben sich die Mehlmotte *Ephestia kuehniella* (ZELLER) und die Dörrobstmotte *Plodia interpunctella* HÜBNER seit ihrer Entdeckung im Jahre 1879 beziehungsweise 1813 auch im mitteleuropäischen Klimagebiet fest etabliert (LEHMENSICK und LIEBERS 1938, STRÜMPEL 1969, LEIBENGUTH 1986).

Obwohl beide Arten weit verbreitete Vorratsschädlinge sind, tritt in gemäßigten Breiten *E. kuehniella* häufig in Getreidelägern und Mühlenbetrieben auf, während *P. interpunctella* vorwiegend in Lebensmittelverarbeitenden Betrieben anzutreffen ist (ZACHER 1950; STRATIL und REICHMUTH 1981; REICHMUTH et al. 1976; HOPPE 1981). Nach REICHMUTH (1993a) ist *P. interpunctella* heute der bedeutendste Schädling der Lebensmittel-erzeugenden Industrie. Zum Befall kommt es durch Einlagerung befallener Partien oder durch Falterzuflug sowie während des Transportes (REICHMUTH et al. 1976).

Die Art des Futtersubstrates hat erheblichen Einfluß auf die Entwicklungsdauer einer Generation, die Fekundität der Weibchen, die Schlüpfrate und die Größe der Falter (ZACHER 1950; HASSAN et al. 1962; HOPPE 1981).

Tab. 1: Entwicklung von *P. interpunctella* an verschiedenen Rohstoffen (nach HOPPE 1981)

Futtersubstrat	Entwicklungsdauer von der Eiablage bis zum Falterschlupf (in Tagen, bei 26°C)		
	\bar{x}	min.	max.
Haselnüsse			
roh	34	33	35
geröstet	37	37	39
Mandeln			
roh	37	34	40
geröstet	36	35	37
Kakaobohnen			
roh	117	103	124
geröstet	86	84	88

Nach HOPPE (1981) dauert der vollständige Entwicklungszyklus der Dörrobstmotte von der Eiablage bis zum Falterschlupf bei 26°C in Abhängigkeit vom Futtersubstrat zwischen 33 und 124 Tage (Tabelle 1).

Da die Entwicklungsdauer der Dörrobstmotte darüber hinaus erheblich von der Temperatur beeinflusst wird, kommt es im mitteleuropäischen Klimabereich in ungeheizten Räumen meist nur zu zwei Generationen pro Jahr (BRAASCH 1972; STEINBRINK 1989).

P. interpunctella durchläuft mehrere Larvenstadien, über deren Anzahl in der Literatur unterschiedliche Angaben gemacht werden. Nach MILES (1933) häuten sich die Larven vier- bis sechsmal. Normalerweise treten fünf Larvenstadien auf (STEIN 1986). Das letzte Larvenstadium verläßt meist das Fraßsubstrat, um sich gut geschützt in Spalten oder Fugen zu verpuppen. Kommt es während der Larvenentwicklung zum Absinken der Temperatur und zur Verkürzung der Photoperiode, kann die verpuppungsreife Larve in ein Diapausestadium eintreten (BELL 1976; BELL und WALKER 1973). Diapausierende Dörrobstmottenlarven können auf diese Weise Wintertemperaturen in ungeheizten Lägern überleben.

Mehlmotten entwickeln sich zwischen 12 und 30°C und benötigen für ihren vollständigen Entwicklungszyklus bei 30°C 39 Tage (BRINDLEY 1930; STEINBRINK 1989). Bei 20°C dauert die Gesamtentwicklung hingegen rund zwei Monate (STEIN 1986). Es gibt sechs Larvenstadien, wobei die erwachsenen, verpuppungsreifen Mehlmottenlarven das Fraßsubstrat häufig verlassen (STEINBRINK 1989, STEIN 1986).

Eine Diapause der Larven konnte bei *E. kuehniella* bisher nicht beobachtet werden (LEIBEN-GUTH 1986). In ungeheizten Lagerräumen entwickeln sich meist drei Generationen pro Jahr (STEINBRINK 1989).

Eine wirksame Bekämpfung vorratsschädlicher Motten erfolgte bisher vor allem mit Mitteln der **Begasung** (REICHMUTH 1988; STEIN 1986; MAKARA 1965). Gase haben den Vorteil, das Lagergut durchdringen zu können und auch Insektenstadien zu erreichen, die sich im Inneren von Getreidekörnern befinden. Die Begasung ist jedoch nur für bestimmte Bereiche des Vorratsschutzes geeignet und das zur Zeit verbreitetste Begasungsmittel Phosphorwasserstoff für den Anwender risikoreich. Die Anwendungsmöglichkeiten der inerten Gase CO₂ und N₂ werden dadurch begrenzt, daß die Lagerräume weitestgehend gasdicht verschließbar sein müssen (REICHMUTH 1993b). Andererseits ist aufgrund der die Ozonschicht schädigenden Wirkung der allmähliche Ausstieg aus der Methylbromidanwendung bis zum Jahre 2010 vorgesehen (ANONYM 1992; BURDICK 1993).

Die im Vorratsschutz eingesetzten wirksamen **Fraß- und Kontaktinsektizide** erfordern gegebenenfalls die strikte Einhaltung der vorgeschriebenen Wartezeiten (SODERSTROM und ARMSTRONG 1973; SPITLER und HARTSELL 1975, ANONYM 1997). In Deutschland ist als einziges Spritzmittel Pirimiphos-methyl zur Behandlung von Brotgetreide im Vorratsschutz zugelassen (ANONYM 1997). Dies darf jedoch erst nach der Feststellung eines Schädlingsbefalls bei Ein- oder Auslagerung des Getreides eingesetzt werden. Hinzu kommt, daß bei Vorratsgütern der Insektizideinsatz durch die Rückstandsbildung auf den behandelten Lagergütern begrenzt ist. Andererseits sind im Vorratsschutz Insektizide mit entsprechender Residualwirkung notwendig, um das Lagergut für einen längeren Zeitraum zu schützen. Die im Verlauf der Lagerperiode abnehmende Wirksamkeit von Kontaktinsektiziden begünstigt die Resistenzbildung. Ein zunehmender Anteil resistenter Stämme an den Schädlingspopulationen im Lager konnte von RASSMANN (1988) beobachtet werden. Resistente Populationen bei *Plodia interpunctella* wurden bereits gegenüber verschiedenen Wirkstoffen nachgewiesen (ZETTLER et al. 1973).

Durch diese mit dem Insektizideinsatz verbundenen Schwierigkeiten im Vorratsschutz wird man zukünftig nicht umhin kommen, vorratsschädliche Motten mit Verfahren zu bekämpfen, die zu geringer Insektizidbelastung führen und eine annähernd gleiche Wirksamkeit gewähren (REICHMUTH et al. 1981).

Von mehreren Autoren wurde vorgeschlagen, die **Kälteempfindlichkeit** der Eier verschiedener Mottenarten zu ihrer Bekämpfung auszunutzen (STRATIL und REICHMUTH 1981; ADLER 1960; CLINE 1970). Eine Kältebehandlung der Fertigprodukte bietet sich in den Lebensmittel-erzeugenden Betrieben für ein nichtchemisches und somit rückstandsfreies Bekämpfungsverfahren an. Schokoladenhersteller nutzen die Kältebehandlung bereits zur Qualitätserhaltung ihrer wärmeempfindlichen Produkte (STRATIL und REICHMUTH 1981). Dörrobstmotteneier sind besonders kälteempfindlich und sterben bei Temperaturen unterhalb ihres Entwicklungsgrenzwertes von etwa 14°C ab (STRATIL und REICHMUTH 1981, WOHLGEMUTH 1976).

Eine Möglichkeit zur Verminderung des Insektizideinsatzes und damit zum Entschärfen des Resistenzproblems im Vorratsschutz ist die **Zucht resistenter Sorten**. Verschiedene Autoren berichten über die Möglichkeit, Schädlingpopulationen im Lager durch die Verwendung resistenter Varietäten einzudämmen (BREESE 1960; RUSSEL 1976; COGBURN 1974; COHEN und RUSSEL 1970 und HOWARD 1984). MBATA (1986) untersuchte 13 verschiedene Erdnußvarietäten und stellte fest, daß resistente Sorten die Entwicklungsdauer der Dörrobstmotte verlängern sowie die Eizahl und Schlupfrate verringern. Da die Verwendung gebrochener Erdnüsse bei allen Sorten die Entwicklung und Schlupfrate der Dörrobstmotten förderte, führte der Autor die Anfälligkeit der Nüsse auf deren Härte zurück. Ein Einfluß der Samenhärte auf die Resistenz gegen *Callosobruchus maculatus* beziehungsweise *Prostephanus truncatus* konnte ebenfalls bei Leguminosen und Mais nachgewiesen werden (NWANZE und HORBER 1975; HOWARD 1984).

In größeren Lägern, wie z.B. Getreideschüttbodenläger, werden häufig **Pheromonfallen zur Flugüberwachung** der Motten und zur Festlegung eines geeigneten Bekämpfungstermins eingesetzt (LEVINSON und LEVINSON 1985). Sie helfen so, den Einsatz chemischer Bekämpfungsmittel einzuschränken (REICHMUTH et al. 1978). Als Köder wird der Sexuallockstoff (Z, E)-9,12-Tetradecadienylacetat (TDA) verwendet. Das TDA ist die Hauptkomponente der Pheromone folgender Phycitidenarten: *Plodia interpunctella*, *Ephestia kuehniella*, *Ephestia elutella*, *Ephestia cautella* und *Ephestia figuliella* (BÜCHI 1992). Pheromonfallen können potentiell auch als **Attraktizid** eingesetzt werden und somit durch ein frühzeitiges und gezieltes Abfangen der Motten den Populationsaufbau verzögern oder verhindern (REICHMUTH et al. 1976; TREMATERRA und BATTAINI 1987). Es handelt sich hierbei um ein Verfahren, bei dem ein Insektizid mit einem Lockstoff kombiniert wird, ohne daß es zu Wirksamkeitsverlusten des verwendeten Insektizids kommt. Untersuchungen von TREMATERRA und CAPIZZI (1991) belegen eine hohe Wirksamkeit des TDA-Pheromon in Kombination mit dem Insektizid Cypermethrin bei der Bekämpfung von Mehlmotten-Männchen.

REICHMUTH et al. (1976) erwähnten weiterhin die Möglichkeit, mit Hilfe von Pheromonen die begattungsreifen Motten durch hohe Konzentrationen zu desorientieren sowie die Population durch mit Pathogenen kontaminierten Pheromonködern zu verdünnen.

Für eine **biologische Bekämpfung** vorratsschädlicher Motten im Lager stehen mehrere Antagonisten zur Verfügung (REICHMUTH et al. 1997). Ein aussichtsreicher Parasit von *Ephestia* spp. ist *Trichogramma evanescens* (SCHÖLLER 1995). Unter künstlichen Bedingungen konnten mit der Schlupfwespe in Abhängigkeit von der Temperatur Bekämpfungsraten zwischen 67% und 78% erzielt werden.

In Untersuchungen von TAKAHASHI (1973) und PRESS et al. (1977) wurde an vorratsschädlichen Motten eine Larvenparasitierung für *Bracon hebetor* SAY (Braconidae) und *Venturia canescens* (GRAVENHORST) (Ichneumonidae) nachgewiesen.

Die meisten Räuber und Parasitoiden sind jedoch spezifisch und vernichten nur bestimmte Stadien. Der Zeitpunkt ihrer Freilassung ist demzufolge entscheidend für den Erfolg der Bekämpfungsmaßnahme.

Eine größere Aussicht, wirksam gegen vorratsschädliche Motten verwendet zu werden, haben nach STEIN (1986) hingegen Mikroorganismen. So wurden aus der Gruppe der Entomopathogene erfolgversprechende Ergebnisse mit *Bacillus thuringiensis* erzielt (McGAUGHEY 1976, 1978, 1980). Nachdem dieses Bakterium erstmals im Jahre 1909 aus Mehlmotten isoliert wurde, waren immer wieder B.t.-bedingte Infektionen in Phycitiden-Populationen zu beobachten (BERLINER 1915; KRIEG 1981). Neben *E. kuehniella* wurde der Erreger auch bei *E. cautella*, *E. elutella* und *P. interpunctella* nachgewiesen (NORRIS 1964; VANKOVA und PURRINI 1979; KRIEG 1968). Die natürlichen Infektionen ließen auf ein entsprechendes Vorkommen von B.t. in Getreide und Getreideprodukten schließen. So ergab die mikrobiologische Untersuchung von Weizenmehl aus Mühlen in Kairo eine Gesamtkeimzahl von $1,9 \times 10^6$ /g Mehl (KRIEG 1981). Getreide und Getreideprodukte mit entsprechendem Befall können somit ein natürliches Erregerreservoir darstellen und unter Umständen dämpfend auf den Phycitiden-Befall in Lägern oder Mühlen einwirken. Um das Lagergut jedoch nachhaltig vor einem Mottenbefall zu schützen, ist die Applikation wirksamer B.t.-Erreger notwendig. So berichtete McGAUGHEY (1976), daß eine erfolgreiche Prävention eines Befalls von *P. interpunctella* und *E. cautella* erzielt wird, wenn 120 g einer B.t.-Formulierung je 1000 g gelagerten Getreides beigemischt wird. Oberflächenbehandlungen mußten bis zu einer Tiefe von 100 mm erfolgen, um hohe Bekämpfungsraten zu erzielen. Die Zulassung kommerzieller Präparate auf Basis von *B. thuringiensis* in der Getreidelagerung der USA ist ein Hinweis für ihre Brauchbarkeit (McGAUGHEY 1982, FRANZ und KRIEG 1982). Infolge wiederholter Anwendung von B.t.-Präparaten kam es jedoch bereits zu ersten Resistenzerscheinungen bei Dörrobstmotten-Populationen (McGAUGHEY 1985; JOHNSON et al. 1990).

Obwohl dieses Bakterium ein wirksamer Antagonist vorratsschädlicher Motten ist, wird in den meisten europäischen Ländern der Einsatz im Vorratsschutz zum gegenwärtigen Zeitpunkt aus lagerhygienischen Gründen nicht erwogen.

Aus der Gruppe der Viren wurden Granuloseviren gegen vorratsschädliche Motten getestet. Zur Vermeidung eines Befalls mit *P. interpunctella* wurden gelagertes Getreide sowie Nüsse behandelt (HUNTER et al. 1973; McGAUGHEY 1975). Da das Virus durch eine aus Protein bestehende Kapsel geschützt wird, ist die Wirksamkeit über einen längeren Zeitraum gesichert. KINSINGER und McGAUGHEY (1976) untersuchten die Wirksamkeit eines Granulosevirus - Präparates und stellten fest, daß die Lebensfähigkeit des Pathogens sich im Verlauf eines Jahres kaum verschlechterte. Sie schlußfolgerten, daß das Lagergut durch eine einmalige Anwendung für die gesamte Lagerperiode vor dem Befall mit *P. interpunctella* geschützt ist. HUNTER et al. (1975) ermittelten, daß ein Gemisch aus Granuloseviren und Malathion gegenüber Dörrobstmotten wirksamer ist als jeder Bestandteil einzeln und es zu synergistischen Wirkungen kommt.

Bei mehreren Arten wirtschaftlich bedeutender Insekten der Ordnung *Lepidoptera* wurden verschiedentlich natürliche Infektionen mit Mikrosporidien beobachtet (PURRINI 1975; KEL-LEN und LINDENGREN 1969). Es handelt sich vornehmlich um Erreger der Gattungen *Mattesia*, *Nosema* und *Thelohania*, deren abtötende Wirkung jedoch nur ungenügend ist. Außerdem ist die Bereitstellung größerer Mengen an Erregermaterial wegen der notwendigen Zucht in lebenden Organismen schwierig.

Nach BURKHOLDER (1981) bieten Läger gute Bedingungen, in Schädlingspopulationen Epizootien zu induzieren. Hierfür ist die Kombination von Pheromonlockstoffen mit trockenresistenten Sporen ein vielversprechendes biotechnisches Bekämpfungsverfahren. Da Entomopathogene die Insekten nicht sofort abtöten, ist diese Methode geeignet, den Erreger in der Wirtspopulation zu verbreiten und somit eine Langzeitwirkung zu erzielen (BURKHOLDER 1981). Die Kombination von Pheromonlockstoffen und Entomopathogenen wurde erstmals durch BURKHOLDER und DICKE (1966) zur Bekämpfung von Speckkäfern untersucht und später von BURKHOLDER und BOUSH (1974) weiterentwickelt. Erfolgreich war die Kombination von Pheromonlockstoffen mit der Mikrosporidie *Mattesia trogodermæ* bei der Bekämpfung von *Trogoderma glabrum* (Herbst) (SHAPAS et al. 1977). KELLEN und HOFF-MANN (1987) sowie VAIL et al. (1993) wandten dieses Konzept zur Bekämpfung von *P. interpunctella* an, indem sie den Sexuallockstoff mit dem Granulosevirus der Dörrobstmotte kombinierten. Die Autoren konnten den Erreger an 95% der Männchen und 83% der Weibchen nachweisen. Die Larven fraßen an kontaminierten Insektenkadavern und wurden auf diese Weise mit dem Virus infiziert, so daß der Erreger in 60% beziehungsweise 52% der F₁ respektive F₂ wiedergefunden wurde.

Wenige Informationen gibt es über Bekämpfungsmöglichkeiten vorratsschädlicher Motten mittels entomopathogener Pilze. Diese Erreger werden in verschiedenen anderen Bereichen der Land- und Forstwirtschaft wirkungsvoll eingesetzt und sind mitunter ein wichtiger Bestandteil einer integrierten Bekämpfungsstrategie (MÜLLER-KÖGLER 1965; ROBERTS und YEN-DOL 1971; FERRON 1978; 1981). In China stellt die Anwendung von Biopräparaten auf Basis von *Beauveria bassiana*, die bereits auf einer Fläche von 0,8 - 1,3 Mio. ha gegen Feld- und Forstschädlingen eingesetzt werden, eine wirkungsvolle Alternative zur chemischen Bekämpfung dar.

Lange Zeit ging man davon aus, daß für eine erfolgreiche Nutzung von Pilzen die Luftfeuchtigkeit im Lebensmittellager zu gering ist und schenkte ihnen infolgedessen im Bereich des Vorratsschutzes wenig Beachtung (SEARLE und DOBERSKI 1984). Die aus verschiedenen Lagerschädlingen isolierten Pilzstämme waren zudem oft nicht wirksam genug oder humantoxikologisch bedenklich (BURDE 1988; BÖYE et al. 1988).

Mit der Entwicklung ölhaltiger Formulierungen, welche in Trockengebieten Afrikas erfolgversprechende Ergebnisse bei der mikrobiellen Bekämpfung von Heuschrecken zeigten, wurde der Einsatz entomopathogener Pilze auch für den integrierten Vorratsschutz interessant. Zudem konnte in Laboruntersuchungen nachgewiesen werden, daß verschiedene Pilzstämme sich innerhalb eines weiten Luftfeuchtigkeitsbereiches entwickeln (FERRON 1977; MOORE 1973).

Die Wirksamkeit entomopathogener Pilze wurde bisher vorwiegend an wirtschaftlich bedeutenden Lagerschädlingen der Ordnung *Coleoptera* im Labor überprüft.

Als einer der Ersten untersuchte FERRON (1977) Stämme von *Beauveria bassiana* gegen den Bohnenkäfer *Acanthoscelides obtectus*. Eine Bekämpfung des Lagerschädling mit *B. bassiana* wurde für möglich gehalten, weil Infektionen bei einer relativen Luftfeuchtigkeit zwischen 0 und 100% nachgewiesen wurden.

SEARLE und DOBERSKI (1984) testeten *B. bassiana* gegen *Oryzaephilus surinamensis*, den wichtigsten Schädling an gelagertem Getreide in Großbritannien. Sie ermittelten Mortalitätsraten bei Larven und Puppen von 91%, nachdem die Konidienformulierungen dem Lagergut beigemischt wurden. Oberflächenbehandlungen führten zu Mortalitätsraten von 53%. In den meisten Fällen war eine relative Luftfeuchtigkeit von über 90% erforderlich, um den Lagerschädling erfolgreich zu bekämpfen. Die Sporendosierung hatte nur einen geringen Einfluß auf die Wirksamkeit von *B. bassiana*.

HLUCHY und SAMSINÁKOVÁ (1989) testeten „Boverosil“, ein Biopräparat auf Basis von *B. bassiana*, welches in Kombination mit Pirimiphos-methyl in der Tschechischen Republik für die Leerraumbehandlung zugelassen ist. Sie ermittelten, daß die Mortalität von der Anzahl an Konidien abhängt, die am Insekt in den ersten zwei Stunden nach der Applikation anhaften.

Virulenzunterschiede gegenüber *Sitophilus zeamais* konnten bei verschiedenen Stämmen von *B. bassiana* festgestellt werden (ADANE et al. 1996). Daraufhin wurde der virulenteste Stamm mit Pirimiphos-methyl (10 ppm) verglichen, indem man den Pilz in Form eines Konidienstaubes dem Lagergut beimischte. Bei 27°C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 70% gab es sowohl in den Mortalitätsraten als auch im Anteil befallener Körner statistisch keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Wirkstoffen.

RODRIGUES-RUEDA und PRATISSOLI (1990) arbeiteten mit *Metarhizium anisopliae* und *Beauveria brongniartii* gegen *Sitophilus zeamais* und *Acanthoscelides obtectus*. LAM et al. (1988) konnten eine Anfälligkeit der Mehlmotte gegenüber *Tolypocladium cylindrosporum* nachweisen. JASSIM et al. (1983) erzielten gute Ergebnisse bei der Anwendung von *B. bassiana* gegen Mehlmottenlarven. Direkte Applikationen hoher Sporendosierungen von 3×10^5 und 4×10^5 Konidien/ cm² Wirtsinsekt verursachten Mortalitätsraten zwischen 96% und 98%.

Die bisherigen Untersuchungen an Lagerschädlingen erfolgten mit Pilzen, welche systematisch den *Fungi imperfecti* (*Deuteromycetes*) der Ordnung *Hyphomycetales* und der Familie *Moniliaceae* zugeordnet werden. Diese Pilze vermehren sich vegetativ. Auf die Konidienkeimung folgen das Mycelwachstum und die Bildung von Sporenträgern, welche Konidien produzieren.

Submers bilden diese Pilze Blastosporen, die ebenfalls gegenüber Insekten infektiös sein können (MÜLLER-KÖGLER 1965). Konidien besitzen jedoch eine längere Persistenz und erleiden zudem geringere Keimverluste während der Ernte, Formulierung und Lagerung (MÜLLER-KÖGLER und SAMSINÁKOVÁ 1969; WEISER 1982; FENG et al. 1994). In trockener Umwelt ist somit die Anwendung der resistenteren Konidien erfolgversprechender.

Die Pathogenese der insektenpathogenen Hyphomyceten entspricht einem allgemeinen Grundschema, welches für die wichtigen Pilzarten *M. anisopliae* und *B. bassiana* von verschiedenen Autoren intensiv untersucht wurde (ZACHARUK 1970a, b, c; CERMÁKOVÁ und SAMSINÁKOVÁ 1960; ROBERTS und HUMBER 1981; St. LEGER 1993).

Der wichtigste Infektionsweg ist die perkutane Infektion (MÜLLER-KÖGLER 1965; CER-MÁKOVÁ und SAMSINÁKOVÁ 1960). Des weiteren konnten perorale, perianale und pertraumatische Infektionen beobachtet werden (GABRIEL 1959; MÜLLER-KÖGLER 1965; ALLEE et al. 1990). Larven von *Melolontha melolontha* werden durch *Beauveria bron-gniartii* bevorzugt am Mund und After infiziert (DELMAS 1973).

Der Infektionsverlauf und die Entwicklung des Pathogens im Wirt vollziehen sich bei verschiedenen Arten und Stämmen nicht immer einheitlich und werden vorwiegend von der Virulenz der Erreger bestimmt (MÜLLER-KÖGLER 1965; STEINHAUS 1954). Nach FERRON et. al. (1991) ist die Fähigkeit der Pilze, das Integument gesunder Insekten zu durchdringen und diese zu infizieren, der wichtigste Vorgang der Pathogenese und gleichzeitig Voraussetzung für eine hohe Virulenz der Erreger. Die Infektiosität der Pilze ist außerdem von deren Vermögen abhängig, auf dem Wirt anzuhaften (GUNNARSSON 1988; HEALE et al. 1991; ZEBOLD et. al. 1979). AL -AIDROOS und ROBERTS (1978) ermittelten, daß eine geringe Virulenz von *M. anisopliae* Isolaten durch deren mangelnde Fähigkeit, auf dem Integument bestimmter Insekten zu haften, verursacht wurde. Die Voraussetzungen für das Anhaften am Integument sind bisher noch nicht vollständig geklärt. Es wird jedoch vermutet, daß spezielle molekulare Rezeptoren vorhanden sein müssen (FERRON et. al. 1991). Um am Wirtsinsekt anhaften zu können, müssen die Pilzsporen außerdem günstige Bedingungen auf dem Wirtsintegument vorfinden. Die hydrophobe chitinisierte Wirtsoberfläche und die hydrophoben Eigenschaften der Konidien begünstigen diesen Vorgang (BOUCIAS et al. 1988; FENG et al. 1994; WEISER 1982). MICHEL (1981) ermittelte, daß ungekeimte Konidien von *B. bassiana* auf der Kutikula der Wachsmotte, *Galleria mellonella*, Esterasen, Lipasen und N-acetylglukosaminidasen bilden, welche für das Anhaften der Sporen auf dem Insektenintegument wichtig sind.

Die Keimung der Konidien auf dem Integument kann je nach Isolat unterschiedliche Zeit in Anspruch nehmen. Die zum Zeitpunkt der Infektion vorkommenden Umweltbedingungen beeinflussen die Keimungsgeschwindigkeit und die Keimrate. Diese sind in hohem Maße von den Temperatur- und Feuchtigkeitsbedingungen abhängig, welche auf dem Wirtsinsekt herrschen (FERRON et. al. 1991). Den wichtigen insektenpathogenen Pilzarten wie *B. bassiana*, *M. anisopliae* und *Verticillium lecanii* werden hohe Wärme- und Feuchtigkeitsansprüche zugeschrieben (SCHNEIDER 1953; MÜLLER-KÖGLER 1965; ROBERTS und CAMPBELL 1977). Nach WALSTAD et al. (1970) sind für eine optimale Keimung der Konidien von *B. bassiana* und *M. anisopliae* eine Luftfeuchtigkeit von über 92% und Temperaturen zwischen 15 und 30°C erforderlich.

Für die Keimschlauchbildung sind Konidien auf verschiedene Nährstoffe angewiesen. SMITH und GRULA (1981) stellten fest, daß *B. bassiana* Kohlenstoff- und Stickstoffverbindungen benötigt. Für die Stimulierung der Keimung eignen sich u.a. Glucose, Glucosamine, Chitin, Stärke und verschiedene langkettige Fettsäuren.

Um das Wachstum eines Keimschlauches und dessen Penetration zu ermöglichen, muß die Haftung zwischen Wirtsoberfläche und Konidie lange genug andauern. Der Keimschlauch wächst entweder als Laufhype auf der Wirtsoberfläche bis er einen geeigneten Angriffspunkt gefunden hat, oder er beginnt unmittelbar mit dem Eindringen in das Wirtsintegument (ROBERTS und HUMBER 1981, ZACHARUK 1970b). Insbesondere hochvirulente Pilzstämmen keimen schnell und dringen sofort in das Insektenintegument ein (PERKRUL und GRULA 1979). Obwohl entomopathogene Pilze in der Lage sind, die chitinhaltige Insektenkutikula zu durchdringen, kommt es häufig zur Penetration an weniger sklerotisierten Stellen wie Intersegmentalfalten und Gelenkhäuten (IGNOFFO 1985; SCHABEL 1978). Histologische Untersuchungen von VEY et. al. (1982) zeigten, daß *Me-*

tarhizium anisopliae bestimmte Penetrationsorte auf dem Integument der Larven von Skarabeiden für die Infektion bevorzugt.

Nach der Überwindung der Epikutikula wächst die Penetrationshyphe lateral und verdrängt dabei mechanisch die Lamellen der Prokutikula. *M. anisopliae* bildet unterhalb der Epikutikula spezielle Penetrationsplatten aus. Für die transintegumentale Penetration wurden bei *M. anisopliae* Appressorium-Strukturen nachgewiesen, die bei *B. bassiana* fehlen (VEY et al. 1982; ZACHARUK 1970b). Nach IGNOFFO (1985) läßt das extensive Wachstum der Penetrationshyphe auf eine aktive Absorption und Verdauung von kutikulären Bestandteilen schließen.

Der Penetrationsvorgang läßt sich als eine Kombination von mechanischem Druck und enzymatischen Prozessen charakterisieren (ROBERTS und HUMBER 1981; STARNES et al. 1993). *B. bassiana* und *M. anisopliae* bilden Proteasen, Lipasen und Chitinasen, welche die Insektenkutikula abbauen und somit dem Pilz das Eindringen in das Wirtsinnere ermöglichen (SAMISNÁKOVÁ und MISIKOVÁ 1973, St. LEGER et al. 1986a,b,c; KCHATCHATOU-RIANS 1991). Die Hydrolyse von Proteinen des Insekteninteguments ist nach LEOPOLDT et al. (1973) eine Voraussetzung für die Wirksamkeit der Chitinasen. LEOPOLDT et al. (1973) sowie BIDCHODKA und KCHATCHATOURIANS (1990) ermittelten eine unterschiedliche Enzymaktivität bei verschiedenen Isolaten von *B. bassiana* und wiesen eine höhere Virulenz bei Stämmen mit hoher Enzymproduktion nach. Unterschiede der Isoesterasen-Freisetzung zeigten RIBA et al. (1986) und POPRAWSKI et al. (1988) bei Untersuchungen an *B. bassiana* Isolaten verschiedener Wirte. In diesem Zusammenhang könnte auch die erhöhte Virulenz entomopathogener Pilze gegenüber Originalwirten oder nahen verwandten Arten stehen (LATCH 1965; FENG et al. 1994). Eine Steigerung der Virulenz gegenüber Alternativwirten kann jedoch über eine wiederholte Wirtspassage der Erreger erreicht werden, in deren Verlauf sich die Erreger an die neuen Wirtsorganismen anpassen (STEINHAUS 1954; FARGUES und ROBERT 1983a; HAYDEN et al. 1992).

Die Anfälligkeit von Insekten gegenüber einer pilzlichen Infektion ist artspezifisch, kann jedoch bei verschiedenen Stämmen innerhalb einer Insektenart unterschiedlich stark ausgebildet sein (RIBA et al. 1982). Darüber hinaus kann der Ernährungszustand des Wirts einen Einfluß auf die Empfindlichkeit der Insekten ausüben, wobei besonders der von der Nahrung abhängige Wassergehalt der Wirtstiere deren Pilzanfälligkeit bestimmt (SCHAERFENBERG 1952; MÜLLER-KÖGLER 1965; DIAMONDÉ 1969; RAMOSKA und TODD 1985). LEPESME (1938) erhielt beispielsweise hohe Infektionsraten bei *Schistocerca gregaria* und *Locusta migratoria* durch *Aspergillus flavus* bei geringer Luftfeuchtigkeit von 45%, wenn die Heuschrecken mit besonders wasserreichem Futter ernährt wurden.

Die wichtigste Barriere für Pilzinfektionen ist das Insektenintegument. Dessen physikalische und chemische Eigenschaften haben Einfluß auf die Resistenz des Insektes gegenüber einer Pilzinvasion. So enthält die sehr dünne äußere Epikutikula gesättigte Fettsäuren mittlerer Länge (C₈-C₁₂) und Paraffin, dessen antifungale Wirkungen nachgewiesen wurden (KOIDSUMI 1957; FERRON 1978; SAITO und AOKI 1983; SMITH und GRULA 1981). Resistente Insekten sind in der Lage, bereits im Integument Abwehrreaktionen durchzuführen. So kommt es am Penetrationsort zur Melanisierung, welche fungistatische Wirkungen hervorruft und darüber hinaus Hemmwirkungen auf Chitinasen und Proteasen ausübt (SODERHÄLL und AXAJON 1982).

Nach dem Durchwachsen des Integuments beginnen die Pilze, sich auf Kosten des Wirtsinsektes zu vermehren (STARNES et al. 1993; CERMÁKOVÁ und SAMSINÁKOVÁ 1960, FENG et al. 1994). Dazu bilden die Penetrationshyphen hefeartige Blastosporen, welche mit der Hämolymphe im gesamten Körper verbreitet werden. Durch Aufzehrung der Hämolymphe, den Befall lebenswichtiger Organe oder durch Toxämie kommt es zum Tod des befallenen Wirtes (KHACHATOURIANS 1991, ROBERTS 1981). In Abhängigkeit von der Virulenz der Stämme und der Anfälligkeit des Insekts sterben die Tiere 3 - 14 Tage nach der Pilzapplikation (STARNES et al. 1993). Hoch virulente Stämme von *M. anisopliae* waren in der Lage, besonders empfindliche Zikaden innerhalb der ersten 24 h nach der Inokulation zu töten (KATSURA 1938).

Großen Einfluß auf die Virulenz haben spezielle Toxine, die während des Krankheitsverlaufs im Insektenwirt wirksam werden (STARNES et al. 1993, ROBERTS und HUMBER 1981). Die Toxinfreisetzungen sind stammspezifisch unterschiedlich ausgeprägt. Die von *M. anisopliae* produzierten Destruxine (Destruxin A bis E und Desmethyldestruxin) werden sofort nach der Durchdringung des Integuments vom Pilz gebildet und verursachen nach kurzer Zeit erste Lähmungserscheinungen. Für die Virulenz von *M. anisopliae* sind Destruxine von großer Bedeutung, da sie den Wirt noch vor dessen vollständiger Pilzbesiedelung abtöten (STARNES et al. 1993; ROBERTS 1981). Über den Wirkungsmechanismus der Destruxine von *M. anisopliae* ist bisher nur soviel bekannt, daß sie zur Überwindung von Immunabwehrreaktionen der Insekten wichtig sind. Außerdem kommt es zu zelltoxischen Reaktionen im Wirt sowie zur Unterdrückung der Synthese von Proteinen bei der DNA-Synthese (VEY et. al. 1986; QUIOT et al. 1985). Für *B. bassiana* wurde das Toxin Beauvericin nachgewiesen, dessen Rolle im Krankheitsverlauf bisher noch nicht vollständig geklärt ist. So besitzen Stämme mit hoher Toxinproduktion nicht gleichzeitig die höchste Virulenz. Des weiteren muß *B. bassiana* die gesamte Hämolymphe des Insektenkörpers mit Hyphen ausfüllen, bevor es zum Tod des Wirtes kommt (STARNES et al. 1993, CERMÁKOVÁ und SAMSINÁKOVÁ 1960).

Nach der Abtötung der Wirte ist für entomopathogene Pilze der Ordnung *Hyphomycetales* eine saprophytische Entwicklung charakteristisch. Postmortal verwertet der Pilz die Substanz des Insektenkörpers und muß sich dabei mit antagonistisch wirkenden Bakterien der Darmflora auseinandersetzen. *B. bassiana* produziert Oosporein, ein rotes antibiotisches Pigment, welches den Insektenkadaver rot färbt und die Entwicklung der Bakterien behindert (CHAMPLIN und GRULA 1979; KANAOKA et al. 1978). Die Pilze durchdringen anschließend in umgekehrter Richtung die Kutikula, um bei hoher Umgebungsfeuchtigkeit auf dem Insektenkadaver Mycel und Sporenträger auszubilden (RAMOSKA 1984, ROBERTS und HUMBER 1981, FENG et al. 1994). Häufig besiedeln jedoch andere Mikroorganismen die Insektenkadaver und können dadurch die Sporulation von *M. anisopliae* auf dem von diesem Pilz getöteten Insekt unterdrücken (RIBA et. al. 1984). Pilzstämme mit schneller Replikation besitzen häufig gegenüber Bakterien eine höhere antagonistische Wirkung und eignen sich somit auch besser für eine biologische Bekämpfung (TANADA und FUXA 1987).

Beim gezielten suppressorischen Einsatz insektenpathogener Pilze wird die Wirksamkeit der Pathogene durch vielfältige Interaktionen mit biotischen und abiotischen Einflußfaktoren bestimmt. Die Intensität und der Umfang der Wechselbeziehungen determinieren die Wirksamkeit des mikrobiellen Eisatzes (TANADA und FUXA 1987).

Für eine erfolgreiche Verwendung entomopathogener Pilze ist in erster Linie eine hohe Virulenz ausschlaggebend. Nach MÜLLER KÖGLER (1965) und JACKSON et al. (1985) ist die Virulenz als variierend quantitativ, krankmachende Eigenschaft isolatspezifisch. Die Virulenz kann jedoch durch verschiedene Faktoren beeinflusst werden. So ermittelte KMITOWA (1978), daß der Ernährungszustand der Pilze Auswirkungen auf die Virulenz der getesteten *B. bassiana*, *Paecilomyces farinosus* und *P. fumosoroseus* Isolate hatte. Bei der Kultur insektenpathogener Pilzstämmen ist es somit unabdingbar, durch die Auswahl geeigneter Nährböden einerseits eine rasche Massenproduktion an Infektionseinheiten zu ermöglichen, andererseits die Virulenz der Pilze gegenüber dem Zielinsekt zu steigern (MÜLLER KÖGLER 1965).

Im Wirt - Pathogen - System müssen verschiedene Parameter bekannt sein. So hat neben der Virulenz die Anzahl von Infektionseinheiten Einfluß auf den Infektionsverlauf. Kenntnisse über die effektive Dosis, der die Zielorganismen ausgesetzt werden müssen, sind für eine erfolgreiche Bekämpfung ebenso wichtig, wie über bestimmte Faktoren, die das Zusammentreffen von Wirt und Pathogen beeinflussen (PINNOCK und BRANDT 1981). Zu diesen Faktoren zählen insbesondere die Überlebensfähigkeit der Konidien sowie die Inokulationsrate, welche wiederum vom Wirtsverhalten, das heißt der Kontaktrate bei perkutan wirkenden Pathogenen, abhängt. Die Inokulationsrate wird weiterhin von der Erregerdichte und deren räumliche Verbreitung bestimmt (TANADA und FUXA 1987). Eine hohe Dichte und eine weite Verbreitung der Pathogene in der Wirtspopulation erhöhen die Wahrscheinlichkeit des Kontaktes zwischen Pilz und Zielinsekt.

Fast immer beeinflusst das herrschende Milieu diese Parameter. So ist die Überlebensrate der Sporen und die Aktivität der Insekten von den herrschenden Temperaturverhältnissen abhängig (PINNOCK und BRANDT 1981, CARRUTHERS und SOPER 1987). Einen großen Einfluß auf die Persistenz der Konidien übt die Luftfeuchtigkeit aus (ROBERTS und CAMPBELL 1977; TANADA und FUXA 1987). Darüber hinaus unterliegen die Konidien entomopathogener Pilze einer raschen Inaktivierung durch die UV-Strahlung des Sonnenlichts (ROBERTS und CAMPBELL 1977, IGNOFFO und GARCIA 1992; STARNES et al. 1993).

Auf seiten des Wirtsinsektes ist neben der Anfälligkeit und der Disposition die Populationsdichte ausschlaggebend für das Zustandekommen nachhaltiger Bekämpfungserfolge (STEIN-HAUS 1954; TANADA und FUXA 1987). Hohe Wirtsdichten erhöhen die Übertragungswahrscheinlichkeit, können Streß der Wirtstiere verursachen und dadurch die Insekten anfälliger gegenüber einer Pilzinfektion machen (STEINHAUS 1958; TANADA und FUXA 1987).

Nur wenn ausreichend Kenntnisse über die ökologischen Zusammenhänge vorhanden sind, ist der Einsatz von Entomopathogenen erfolgversprechend. Diese müssen bereits bei der Herstellung pilzlicher Biopräparate berücksichtigt werden.

So ist es unabdingbar, daß die Formulierungen die biologischen Aspekte des Pilzes und des Zielinsektes berücksichtigen. WEISER (1982) zeigte, daß wäßrige Formulierungen kutikuläre Schichten des Integumentes bei Mücken anschwellen lassen und dadurch die Insekten gegenüber der Penetration durch *B. bassiana* und *M. anisopliae* resistenter werden.

Mit Hilfe geeigneter Formulierungen ist man bestrebt, die Anhaftung der Pilzsporen am Zielinsekt zu verbessern. Die Formulierungsbestandteile dürfen jedoch den Infektionsprozeß nicht beeinträchtigen und sollen die

Lebensfähigkeit, die Virulenz und die Übertragbarkeit der Sporen steigern. Durch die Entwicklung von Ölformulierungen mit Pilzsporen ist man bereits in der Lage, die Abhängigkeit der Infektion von der Luftfeuchtigkeit zu verringern (PRIOR et al. 1988). Die Herstellung Feuchte bewahrender Formulierungen befähigte so ansonsten trockenanfällige Pilzsporen, im suboptimalen Feuchtebereich zu keimen (STARNES et al. 1993; ZIMMERMANN 1992). Des weiteren ist man bestrebt, die Umweltpersistenz und die Lagerstabilität von Pilzsporen durch geeignete Formulierungen zu verbessern. Sporenformulierungen sollten andererseits mit bereits existierenden Applikationstechnologien kompatibel sein (FENG et al. 1994).

3 Aufgabenstellung

Die vorliegenden Untersuchungen sollen dazu beitragen, die Möglichkeiten eines Einsatzes entomopathogener Pilze gegen die Mehlmotte *Ephesia kuehniella* (ZELLER) und die Dörrobstmotte *Plodia interpunctella* HÜBNER (Lepidoptera: Pyralidae) zu ermitteln. Die Forschungen entomopathogener Pilze sollen außerdem auf ihre Bedeutung im Hinblick auf den Vorratsschutz erweitert werden. Insbesondere wurden Erkenntnisse über die Voraussetzungen für eine erfolgreiche Infektion unter Lagerbedingungen gewonnen.

Da die Wirkung entomopathogener Pilze stammabhängig ist und darüber hinaus von den herrschenden Umwelteinflüssen und der Konstitution der Wirtsinsekten beeinflusst wird (MÜLLER-KÖGLER 1965), galt es, das Zusammenwirken von Erreger und Wirtsinsekt unter variierenden Umweltbedingungen zu untersuchen. Dies erfordert vor allem Informationen zur Virulenz der verwendeten Pilzstämme sowie zur Anfälligkeit der Zielinsekten, insbesondere deren unterschiedlicher Entwicklungsstadien.

Im Hinblick auf eine erfolgreiche biologische Bekämpfung sind Erkenntnisse über die Auswirkung einer Pilzbehandlung auf die Nachfolgeneration der Wirte von Bedeutung.

Zur Beurteilung erzielbarer Bekämpfungseffekte wurden weiterhin Untersuchungen zur Wirksamkeit der pilzlichen Erreger unter kontrollierten praxisnahen Bedingungen durchgeführt. Zu diesem Zweck erfolgten im Labor Untersuchungen zur Wirksamkeit einer Behandlung der Brutsubstratoberfläche sowie nach Beimischung der Konidien zum Lagergut.

Untersucht wurden außerdem die Möglichkeiten, Pilzsporen mit Hilfe von Sexualpheromonen gezielt in die Schaderregerpopulation einzuführen und von befallenen auf gesunde Insekten zu übertragen.

Wichtig für die Wirksamkeit entomopathogener Pilze ist die Stabilität der verwendeten Sporenformulierungen. Im Labor erfolgten in diesem Zusammenhang Versuche zur Lagerfähigkeit und Umweltpersistenz unterschiedlich formulierter Sporen.

4 Material und Methoden

4.1 Anzucht der Wirtstiere

Um aussagekräftige Ergebnisse aus Biotests gewinnen zu können, in deren Verlauf die Wirkung pilzlicher Erreger auf vorratsschädliche Motten untersucht wird, ist die Bereitstellung einer größeren Anzahl an Wirtstieren unabdingbar.

Die Anzucht der Insekten erfordert hierfür geeignete Substrate. Für Versuche mit Larven der Mehlmotte wurde Weizen verwendet. Als Aufzuchtsubstrat für Mehlmottenimagines diente ein Gemisch aus 500 g Weizen und 100 g Weizenschrot.

Zur Bereitstellung von Dörrobstmottenlarven erfolgte die Aufzucht der Versuchstiere auf Mandelbruch. Das Aufzuchtsubstrat der Dörrobstmottenimagines bestand aus 300 g Mandelschrot und 300 g Weizenkleie mit folgender Zusammensetzung: 100 g Weizenkleie, 12 g Glucose, 20 g Hefe, 20 g Glyzerin und 5 ml Wasser. Zum Homogenisieren wurde die Kleie 3 min. im Mixer durchgeknetet.

Die Anzucht der Imagines und Larven erfolgte in 3 l bzw. 1 l Glasgefäßen bei 25°C, einer relativen Luftfeuchtigkeit von 65 - 75% und in Dunkelheit.

4.2 Untersuchungen zur Pathogenität geeigneter Pilzstämme

Da eine Virulenz gegenüber nahe verwandten Wirten zu erwarten ist, wurden ausschließlich Pilzstämme getestet, die aus Insekten der Ordnung *Lepidoptera* isoliert waren.

Die Untersuchungen erfolgten mit Stämmen (Isolaten) von *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) Sorok. (M.a.73 und M.a.110), *Beauveria bassiana* (BALSAMO.) Vuill. (B.ba.56 und B.ba.112), *Paecilomyces farinosus* (DICKS) Brown et Smith (Paec.f.34) und *Paecilomyces fumosoroseus* (WIZE) Brown et Smith (Paec.f.10) (*Hyphomycetales: Moniliaceae*). Eine Charakterisierung der verwendeten Pilzstämme findet sich in Tabelle 2.

Sämtliche Pilze wurden vom Institut für biologischen Pflanzenschutz der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Darmstadt zur Verfügung gestellt.

Die Stammhaltung der Pilze am Fachgebiet Phytomedizin und angewandte Entomologie der Humboldt - Universität - Berlin erfolgte *in vitro* auf Biomalz Pepton Agar (MPA) bei 4°C. Eine Überimpfung wurde im Abstand von vier Monaten durchgeführt. Zur Vermeidung von Virulenzverlusten erfolgte nach acht Monaten eine Wirtspassage.

Tabelle 2: Ursprung der im Verlauf der Untersuchungen verwendeten Pilzstämme

Pilzstamm	Wirtsinsekt	Ursprungsort	Isolationszeitpunkt
<i>Metarhizium anisopliae</i> 73	<i>Lobesia botrana</i>	Bologna / Italien	10 / 88
<i>Metarhizium anisopliae</i> 110	<i>Galleria mellonella</i>	Muro / Mallorca	1 / 91

<i>Beauveria bassiana</i> 56	<i>Carpocapsa pomonella</i>	Wien	3 / 71
<i>Beauveria bassiana</i> 112	<i>Cossus cossus</i>	Bologna / Italien	10 / 88
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i> 10	<i>Eupithelia innotata</i>	Helsinki	10 / 85
<i>Paecilomyces farinosus</i> 34	Diapausepuppen von <i>Mamestra brassicae</i>	Darmstadt	11 / 82

Für den Nachweis der Pathogenität wurde die von MÜLLER-KÖGLER (1965) und LAM et al. (1988) beschriebene Methode angewendet:

Zur Ermittlung der Pathogenität kamen zunächst 4 x 24 frisch geschlüpfte Falter von *E. kuehn-iella* und *P. interpunctella* für zwei Minuten auf eine sporulierende Reinkultur der Pilze. Anschließend wurden die Tiere in Petrischalen, die jeweils eine mit Gaze abgedeckte Öffnung enthielten, überführt. In jede Petrischale wurden jeweils sechs behandelte Falter gebracht.

Da der Nachweis der Pathogenität bei möglichst hoher Luftfeuchtigkeit durchzuführen ist, wurden die Petrischalen anschließend auf vier Exsikkatoren verteilt, in denen eine Luftfeuchtigkeit von 96% herrschte. Die relative Luftfeuchtigkeit stellte sich in den geschlossenen Exsikkatoren nach drei Tagen über destilliertem Wasser ein. Zum Vergleich begleiteten Kontrollserien mit unbehandelten Tieren die Untersuchungen bei sonst gleichen Versuchsbedingungen.

Da die bei pilzlichen Insektenerkrankungen auftretenden Symptome nicht streng spezifisch sind, mußte der mikroskopische Nachweis der postinfektionell entstandenen Pilzsporen Gewißheit über die Identität der Erreger bringen. Fruktifizierten die Pilze nicht äußerlich am Insekt, wurden die abgestorbenen Imagines mit Zellstoff gesäubert, daraufhin für drei Minuten in eine Jodtinktur und anschließend in 96%-igen Alkohol getaucht. Diese Vorgehensweise sollte sicherstellen, daß äußerlich anhaftende Pilzsporen sowie andere mikrobielle Erreger, die den Pathogenitätsnachweis erschweren, entfernt werden. Abgetötete Tiere wurden in feuchte Kammern überführt. Die sich daraufhin auf den Tierkörpern bildenden Pilzsporen wurden isoliert und *in vitro* reproduziert. Abschließend erfolgte eine erneute Inokulation an gesunden Motten.

Der Pathogenitätsnachweis erfolgte nach dem Koch'schen Postulat. Er galt als geführt, wenn die inokulierten Tiere deutlich schneller abstarben als die unbehandelten Kontrolltiere, und wenn in ersteren der Erreger nachgewiesen wurde.

4.3 Untersuchungen zur Virulenz entomopathogener Pilzstämme

Virulenz in Abhängigkeit von Pilzstamm und Wirtsart

Die Virulenz ist eine genetisch bedingte Eigenschaft insektenpathogener Pilze, die durch zahlreiche Faktoren beeinflusst wird. Nur mit Hilfe streng standardisierter Biotests ist es möglich, Virulenzunterschiede zwischen verschiedenen Pilzstämmen zu erfassen und statistisch auszuwerten (FARGUES und REMAUDIÈRE 1977; McCOY et al. 1985).

Zur Virulenztestung wurden die Pilzstämme bei frisch geschlüpften Imagines von *E. kuehniella* und *P. interpunctella* inokuliert. Zur Bestimmung der Isolat-Virulenz dienten Konidien, die von 21 Tage alten Pilzkulturen stammten. Die Pilze waren bei 25°C im Dunkeln auf Biomalz-Pepton-Agar herangezogen worden. Der Nährboden bestand aus 10 g Biomalz, 2,5 g Pepton aus Kasein, 15 g Gelrite-Agarsubstitute, 1000 ml H₂O_{dest.}, besaß einen pH-Wert von 5,5 und war für 20 Minuten bei 120°C autoklaviert.

Unter sterilen Bedingungen wurden die Sporen unter Zusatz von 0,1%-iger Tween 80-Lösung (Polyoxyethylen-sorbitanmonooleat) abgeschwemmt und 30 Minuten auf einem Horizontal-schüttler homogenisiert. Die Bestimmung des Konidiengehaltes eines Inokulates erfolgte mit einer Thoma-Zählkammer und wurde anschließend durch Zugabe von sterilem entionisiertem Wasser auf den gewünschten Sporentiter eingestellt.

Zusätzlich wurde das Keimvermögen der Sporen überprüft. Dazu wurden die Keimraten der einzelnen Pilzstämme bei 25°C und 48 h Inkubation ermittelt. Die ausführliche Beschreibung des Testverfahrens wird im nachfolgenden Abschnitt zum Einfluß der Temperatur gegeben. Die Keimraten betrugen: *B. bassiana* 56 - 92%; *M. anisopliae* 110 - 98%; *M. anisopliae* 73 - 95%; *P. fumosoroseus* 10 - 95% und *P. farinosus* 34 - 86%.

Anschließend wurden die Pilzstämme in Form von Sporensuspensionen mittels DC-Sprühgerät mit Treibmittel (CH₂F - CF₃ Flüssiggas) auf Filterpapier versprüht, welches auf den Innenflächen von Petrischalen klebte. Die Applikationsdosis betrug 10⁷ Sporen pro Petrischale.

Bei den Versuchen enthielt jede Variante 96 frisch geschlüpfte Falter. Jeweils sechs Insekten wurden für zwei Stunden zur Inokulation in eine kontaminierte Petrischale gebracht. Die Petrischalen befanden sich während der Inokulation in Exsikkatoren bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 96% und 25°C.

Nach der Inokulation wurden die Motten zur Inkubation in saubere Petrischalen überführt. Die Inkubation erfolgte in Exsikkatoren bei 96% relativer Luftfeuchtigkeit, 25°C und bei Dunkelheit. Tote Tiere wurden täglich ausgesondert und mit Jodtinktur und 96%-igem Alkohol äußerlich desinfiziert. Anschließend erfolgte in feuchter Kammern die Überprüfung von Verpilzungen an den Insektenkadavern.

Die Virulenzbestimmung erfolgte anhand der Mortalitätsraten nachweislich durch die Pilzstämme abgetöteter Imagines. Für die Bestimmung von Signifikanzen wurde der Chi²-Test (2 x 2 Kontingenztafelanalyse) durchgeführt (WEBER 1972a). Die statistische Auswertung des Datenmaterials erfolgte bei allen Versuchen mit dem Computerstatistikprogramm SPSS.

Virulenz in Abhängigkeit von Infektionsbedingungen auf seiten der Umwelt

Einfluß der Temperatur

Da die Temperatur sich hauptsächlich auf das Keimungsverhalten der Pilzsporen auswirkt und dadurch die Virulenz der Pilzstämme beeinflusst, erfolgte die Überprüfung des Umweltfaktors Temperatur in Form von Sporenkeimungsversuchen.

Für die Durchführung verschiedener *in vitro* Versuche zur Beobachtung und Ermittlung von Sporenkeimvorgängen wurden Sporensuspensionen verwendet, die 10⁵ Konidien /ml, 0,5% Glucose und 0,5% Pepton aus

Kasein enthielten. Die Zugabe organischer Substanzen erfolgte aufgrund bereits aus der Literatur bekannter Effekte einer Stimulierung der Konidienkeimung (MÜLLER-KÖGLER 1965, KMITOWA 1978, MÜHLE und WETZEL 1990).

Sterilisierte Objektträger mit Adhäsionswirkung (Kammerdurchmesser = 6 mm) wurden mit acht Tropfen der Sporensuspension versehen. Je Variante wurden somit acht Wiederholungen durchgeführt.

Die Inkubation erfolgte in feuchte Kammern bei 25°C in Dunkelheit im Brutschrank. Der Keimungsverlauf wurde bei 15°C, 20°C, 25°C 30°C bestimmt. Mit der Auswahl der vier Temperaturstufen sollte den in Lägern während einer Mottenkalamität herrschenden Temperaturbereichen entsprochen werden.

Die Bonitur der Keimung wurde unter dem Lichtmikroskop alle zwei Stunden durchgeführt. Dazu wurden einhundert zufällig ausgewählte Sporen auf ihre Keimung geprüft.

Die statistische Bearbeitung der Ergebnisse erfolgte mittels linearer Regression nach MÜLLER-KÖGLER und SAMSINAKOVA (1969) und WEBER (1972b). Unter Verwendung von Probittransformationen konnten die Zeiten berechnet werden, nach denen 50% der Sporen gekeimt sind (T_{g50}). Für Aussagen über statistisch signifikante Unterschiede der berechneten T_{g50} werden die zugehörigen Vertrauensbereiche herangezogen.

Einfluß der relativen Luftfeuchtigkeit

Die relative Luftfeuchtigkeit ist nach bisheriger Kenntnis für die Infektiösität entomopathogener Pilze sehr bedeutend, da für die Keimung der Pilzsporen eine bestimmte Luftfeuchtigkeit erforderlich ist.

Da die auf der Insektenoberfläche herrschende Luftfeuchtigkeit sich von der des umgebenden Raumes unterscheiden kann, erfolgten die Virulenztests *in vivo* am Zielinsekt.

Um Rückschlüsse auf die Wirksamkeit der untersuchten Pilzstämmen bei lagerähnlichen Bedingungen ziehen zu können, wurden die Untersuchungen bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 75% durchgeführt. Nach SEARLE und DOBERSKI (1984) sowie ADANE et al. (1996) beträgt die Luftfeuchtigkeit in Lägern häufig zwischen 60 und 80%. Zur Ermittlung des Einflusses der relativen Luftfeuchtigkeit auf die Virulenz der Pilzstämmen dienten in der vorliegenden Arbeit Vergleichstests bei 95% Luftfeuchtigkeit.

Die Untersuchungen zum Einfluß der relativen Luftfeuchtigkeit auf die Virulenz der Pilzstämmen erfolgten an frisch geschlüpften Imagines von *E. kuehniella* und *P. interpunctella*. Die Pilzstämmen wurden *in vitro* auf MPA 21 Tage bei 25°C in Dunkelheit kultiviert. Nach der Sporulation wurden die Konidien mit entionisiertem sterilem Wasser unter Zugabe von 0,1% Tween 80 abgeschwemmt. Die Herstellung der Konidien suspensionen und die Applikation entsprachen der im Abschnitt „Virulenz in Abhängigkeit von Pilzstamm und Wirtsart“ beschriebenen Verfahrensweise.

Die Inokulation erfolgte bei ca. 75% bzw. 95% in kontaminierten Petrischalen, die jeweils eine mit Gaze bedeckte Öffnung enthielten und sich in Exsikkatoren befanden. Zur Absicherung einer konstanten Umgebungsfeuchte von 75% im geschlossenen Exsikkator, diente gesättigte NaCl-Lösung nach WINSTON und BATES (1960).

Nach der Inokulation wurden jeweils sechs Falter in saubere Petrischalen überführt, die sofort in die Exsikkatoren mit entsprechender Luftfeuchtigkeit untergebracht wurden. Pro Pilzstamm und Feuchtigkeitsstufe wurden 4 x 24 Imagines gleichen Alters getestet.

Einem Vorschlag von WEBER (1972b) folgend, wurden die Letalwerte mittels Regressions-analyse aus den Prozent - Mortalitätsprobits und den dazugehörigen logarithmischen Werten der Einwirkzeit ermittelt. Durch die Probittransformationen konnten die Zeiten berechnet werden, nach denen 50% bzw. 90% der behandelten Insekten abgestorben waren (LT_{50} ; LT_{90}).

Virulenz in Abhängigkeit vom Ernährungszustand des Pilzes

Zur Herstellung von mikrobiellem Erregermaterial müssen entomopathogene Pilze auf adäquaten Nährböden kultiviert werden. Mitunter unterscheiden sich selbst Stämme der gleichen Pilzart erheblich in ihrem Wirtsspektrum und können auch verschiedene Anforderungen hinsichtlich der Nährbödenzusammensetzung *in vitro* Kultur besitzen.

Es war das Ziel der Untersuchungen, jeden Pilzstamm auf Nährböden heranzuziehen, die einerseits eine optimale Konidienproduktion gewähren und andererseits den Pilzstämmen gegenüber dem jeweiligen Zielinsekt eine hohe Virulenz verleihen. Die verwendeten Nährböden sowie deren Zusammensetzung sind in der Tabelle 3 dargestellt.

Die Auswahl der Komplexnährböden berücksichtigte bereits aus der Literatur bekannte Effekte einer Förderung der Sporulation und Virulenz bei entomopathogenen Pilzen. Teilweise erfolgte eine Modifizierung der in der Literatur empfohlenen Kohlenstoffquellen.

Tabelle 3: Charakterisierung der in den Untersuchungen getesteten Nährböden

Nährboden	Zusammensetzung	Autor
Laktose - Pepton (LPA)	10,0g Laktose 2,5 g Pepton aus Kasein 15,0g Gelriteagarsubstitute 1000 ml H ₂ O _{dest.}	KMITOWA (1978)
Malz - Pepton (MPA)	10,0g Biomalz 2,5 g Pepton aus Kasein 15,0g Gelriteagarsubstitute 1000 ml H ₂ O _{dest.}	MÜHLE und WETZEL (1990)
Saccharose - Pepton (SPA)	10,0g Saccharose 2,5 g Pepton aus Kasein 15,0g Gelriteagarsubstitute 1000 ml H ₂ O _{dest.}	
Czapec Dox-glucose Glucose (CzD Gluc)	10,0g Glucose 2,0 g NaNO ₃ 0,5 g MgSO ₄ 1,0 g K ₂ HPO ₄	MÜHLE und WETZEL (1990)

	0,01 g FeSO ₄ 0,5 g KCL 15,0g Gelriteagarsubstitute 1000 ml H ₂ O _{dest.}	
Czapec Dox- Glycerol (CzD Glyc)	10,0g Glycerol 2,0 g NaNO ₃ 0,5 g MgSO ₄ 1,0 g K ₂ HPO ₄ 0,01 g FeSO ₄ 0,5 g KCL 15,0g Gelriteagarsubstitute 1000 ml H ₂ O _{dest.}	MÜHLE und WETZEL (1990)
Haferflocken (HFA)	30,0g Haferflocken 0,02g FeSO ₄ 15,0g Gelriteagarsubstitute 1000 ml H ₂ O _{dest.}	MÜLLER-KÖGLER (1965)
Riba Glucose (Riba Gluc)	10,0g Glucose 0,36g KH ₂ PO ₄ 1,42g Na ₂ HPO ₄ 1,0 g KCL 0,6 g MgSO ₄ 0,7 g NH ₄ NO ₃ 5,0 g Hefeextrakt 15,0g Gelriteagarsubstitute 1000 ml H ₂ O _{dest.}	RIBA et al. (1984)
Riba Saccharose (Riba Sacch)	10,0g Saccharose 0,36g KH ₂ PO ₄ 1,42g Na ₂ HPO ₄ 1,0 g KCL 0,6 g MgSO ₄ 0,7 g NH ₄ NO ₃ 5,0 g Hefeextrakt 15,0g Gelriteagarsubstitute 1000 ml H ₂ O _{dest.}	

Nach HUBER (1958) entwickeln sich Hyphomyceten bei einem pH-Wert zwischen 3,3 und 8,5. Da nach FERRON (1981) ein pH-Wert zwischen 5 und 6 für die Sporulation der Pilze am günstigsten ist, erfolgte die Kultur der zu testenden Nährböden bei einem pH-Wert von 5,5.

Einfluß auf die Sporulation

Zur Ermittlung der Sporulation wurden die zu testenden Nährböden 20 min. bei 120°C autoklaviert und anschließend zu jeweils 10 ml in Petrischalen gegossen. Im Anschluß wurden aus 14 Tage alten Kulturen (9 cm Petrischale, Biomalz-Peptonagar) mittels Korkbohrer (Durchmesser: 7 mm) Agarblöcke ausgestochen und auf die Testplatten überführt. Eine anschließende Inkubation erfolgte für 21 Tage im Brutschrank bei 25°C in Dunkelheit.

Zur Bestimmung der Sporulation wurden mittels Korkbohrer je Testplatte vier Agarblöcke mit einer Größe von 10 mm² abgetrennt und jeweils in 1ml steriles entionisiertes Wasser gebracht.

Die Sporensuspensionen wurden anschließend 30 min. auf einem Horizontalschüttler homogenisiert. Die Auszählung der Konidien erfolgte mittels Thoma-Zählkammer. Der Versuch wurde 8-fach wiederholt.

Die Prüfung der Untersuchungsergebnisse auf Varianzhomogenität mittels Test von LEVENÉ ergab, daß die Werte keine Varianzhomogenität aufwiesen. Eine daraufhin durchgeführte statistische Verrechnung der Ergebnisse mittels KRUSTAL - WALLIS - Test und anschließendem Test nach NEMENYI (SACHS 1992) erbrachte keine aussagekräftige Signifikanzen. Zur Auswertung wurden deshalb die 95%- Vertrauensbereiche sowie die empirischen Verteilungen ermittelt.

Einfluß auf die Virulenz

Die Untersuchungen zum Einfluß des Ernährungszustandes entomopathogener Pilze auf die Virulenz wurden bei frisch geschlüpften Imagines von *E. kuehniella* und *P. interpunctella* durchgeführt. Für die Virulenztests dienten jene Nährböden, die im Verlauf der Untersuchungen zum Einfluß auf die Sporulation bei den einzelnen Pilzstämmen eine gute Sporenbildung bewirkten. Die einzelnen Pilzstämmen wurden auf folgenden Nährböden kultiviert (Abkürzungen siehe Tabelle 3):

- B.ba.56: Hfa, Riba Sacch., Riba Gluc, CzD Gluc, CzD Glyc, MPA, LPA
- M.a.110: Hfa, Riba Sacch., Riba Gluc, CzD Gluc, CzD Glyc, MPA, LPA, SPA
- M.a.73: Hfa, Riba Gluc, SPA, CzD Gluc, MPA
- Paec.f.10: Hfa, Riba Sacch., Riba Gluc, CzD Gluc, CzD Glyc, MPA, LPA
- P.f.34: Hfa, Riba Gluc, CzD Gluc, MPA.

Die Pilze wurden zunächst auf den zu testenden Nährböden 21 Tage bei 25°C in Dunkelheit kultiviert. Die Konidien wurden mittels sterilem entionisiertem Wasser unter Zusatz von 0,1 % Tween 80 abgeschwemmt und eine Stunde auf einem Horizontalschüttler homogenisiert.

Anschließend erfolgte mittels Thoma-Zählkammer die Auszählung der Sporen und durch Hinzugabe der entsprechenden Menge an sterilem entionisiertem Wasser die Einstellung auf 10^7 Sporen / ml. Die gewonnenen Sporensuspensionen wurden nochmals eine Stunde auf einem Horizontalschüttler homogenisiert.

Die Kontamination der Petrischalen erfolgte nach der zu Beginn des Kapitels 4.3 beschriebenen Verfahrensweise. Für die Inokulation wurden die Falter für zwei Stunden in kontaminierte Petrischalen gebracht. Die Inokulation verlief bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 76% und einer Temperatur von 25°C durchgeführt. Das Zusammentreffen zwischen Erreger und Wirtsinsekt erfolgte mittels indirekter Inokulation und entsprach somit dem Kontaktmodus in der Praxis. Die Inkubation der behandelten Insekten erfolgte in sauberen Petrischalen bei

76% Luftfeuchtigkeit, 25°C und Dunkelheit im Brutschrank. Je Versuchsvariante wurden 4 x 24 Insekten getestet.

Für die Auswertung dienten die täglichen Mortalitätsraten. Die Letalwerte wurden mittels Probitanalyse aus den Mortalitätsraten und den logarithmierten Einwirkzeiten ermittelt. Aussagen über statistisch signifikante Unterschiede der berechneten LT_{50} und LT_{90} - Werte können aus den zugehörigen Vertrauensbereichen entnommen werden.

4.4 Einfluß der Inokulumdichte auf die Wirksamkeit der Pilze

Als wichtiger Faktor auf seiten des Pilzes stellt sich das Inokulumpotential dar, welches maßgeblich durch die Inokulumdichte bestimmt wird. Es war das Ziel der Untersuchungen, den Einfluß unterschiedlicher Sporendosierungen auf die Wirksamkeit der Pilzstämmen gegenüber Dörrobstmotten zu ermitteln.

Für den Laborversuch dienten frisch geschlüpfte Dörrobstmottenimagines.

Zur Gewinnung von Erregermaterial wurde *M. anisopliae* 110 und *B. bassiana* 56 auf Hfa sowie von *P. fumosoroseus* 10 auf CzD Gluc kultiviert. Die *in vitro* Anzucht der Pilze erfolgte 21 Tage bei 25°C in Dunkelheit. Die Konidien wurden mit sterilem *aqua dest.* (0,1% Tween 80) abgeschwemmt und 30 Minuten auf dem Horizontalschüttler homogenisiert. Nachdem Auszählen mittels Thoma-Zählkammer erfolgte die Einstellung auf die gewünschten Sporenkonzentrationen (10^5 , 10^6 bzw. 10^7 Sporen / ml).

Pro Pilzstamm und Konzentrationsstufe wurden 4 x 24 Tiere tauchbehandelt. Nach der Inokulation wurden die Insekten bei 76% Luftfeuchtigkeit und 25°C in Petrischalen inkubiert. Die Bonituren erfolgten täglich durch Auszählen der toten und lebenden Tiere. Abgestorbene Falter wurden äußerlich mit Jodtinktur und Alkohol desinfiziert und in feuchte Kammern überführt.

Zur Auswertung der Versuchsergebnisse dienten die mittels Probitanalysen berechneten LT_{50} und LT_{90} . Zusätzlich wurde der Anteil nachweisbar durch die Pilzstämmen abgetöteter Imagines festgestellt. Für Aussagen über statistisch signifikante Unterschiede wurde der χ^2 -Test (2 x 2 Kontingenztafelanalyse) durchgeführt.

4.5 Untersuchungen zur Wirksamkeit entomopathogener Pilze auf Eier sowie Larvenstadien von *P. interpunctella*

Kenntnisse über die Infektionsbedingungen auf seiten der Zielinsekten sind für die Entwicklung einer Anwendungsstrategie ebenso wichtig wie Informationen zur Isolatvirulenz und zum Einfluß der Umweltfaktoren. Bei einer Inokulation anfälliger Wirtstiere mehrerer Stadien lassen sich die Erreger leichter in der Wirtspopulation etablieren, wodurch die Erfolgsaussichten der Bekämpfungsmaßnahme erheblich erhöht werden.

Anfälligkeit der Eier

Die Bestimmung der Wirksamkeit auf die Eier der Dörrobstmotte erfolgte mit Konidien von M.a.110, B.ba.56 und Paec.f.10. Für die Untersuchungen wurden M.a.110 und B.ba.56 auf Hfa und Paec.f.10 auf CzD Gluc bei 25°C im Brutschrank kultiviert. Nach erfolgter Sporulation wurden die Konidien mit sterilem *aqua dest.* (+ 0,1% Tween 80) abgeschwemmt.

Die Suspensionen wurden auf dem Horizontalschüttler 30 min. homogenisiert.

Der Versuch zur Eimortalität nach unterschiedlicher Pilzbehandlung wurde in Petrischalen angesetzt, die analog der im Abschnitt 4.3 beschriebenen Verfahrensweise präpariert waren. Die Sporendosierungen wurden so gewählt, daß die Applikation von 1 ml Sporensuspension pro Petrischale eine Applikationsdosis von $2 \times 10^5 / \text{cm}^2$, $2 \times 10^6 / \text{cm}^2$ und $2 \times 10^7 / \text{cm}^2$ ergab.

Die Auswahl von drei Konzentrationsstufen sollte Hinweise auf die Anfälligkeit der Dörr-obstmotten-Eier bei unterschiedlicher Konzentration des Inokulums erbringen, welche Rückschlüsse auf eine praktische Bekämpfungsmöglichkeit von Eiern zulassen.

Zur Inokulation wurden die Eier mit einem Pinsel in die Schalen gebracht. Genutzt wurden ausschließlich 24 h alte Eier. Die Inkubation erfolgte im Exsikkator bei 76% r.F. und in Abhängigkeit von der Temperatur. Als Inkubationstemperatur wurden 20 und 25°C gewählt. Pro Variante erfolgten vier Wiederholungen mit je 20 Eiern.

Zur Auswertung wurde die Anzahl schlüpfender Eilarven ermittelt. Die Prüfung der Untersuchungsergebnisse auf Normalverteilung mittels K-S-LILLEFORS-Test zeigte, daß die Werte nicht normal verteilt waren. Für die statistische Verrechnung wurden deshalb die Daten zunächst umgeformt ($\arcsin \sqrt{p}$) und konnten anschließend durch eine dreifaktorielle Varianzanalyse verglichen werden (SACHS 1992).

Altersbedingte Sensitivität der Larvenstadien

Es war das Ziel der Untersuchungen, Aussagen über die Anfälligkeit verschiedener Larvenstadien von *P. interpunctella* gegenüber virulenten Pilzstämmen zu treffen. In Laborversuchen wurden die ersten vier Larvenstadien der Dörrobstmotte getestet. Um Rückschlüsse über eine praktische Bekämpfbarkeit der Schädlinge ziehen zu können, erfolgten die Untersuchungen unter lagerähnlichen Bedingungen bei 76% Luftfeuchtigkeit, 25°C und in Dunkelheit.

Gegenüber den verschiedenen Larvenstadien der Dörrobstmotte wurden jene Pilzstämmen getestet, die sich im Verlauf der vorherigen Untersuchungen zur Virulenz als wirksam erwiesen hatten. Basierend auf den Ergebnissen des Kapitels 5.2.3 erfolgte die Anzucht der virulenten Pilzstämmen auf den entsprechenden Nährböden. Nach erfolgter Sporulation wurden die Konidien mit sterilem entionisiertem Wasser unter Zusatz von 0,1 % Tween 80 abgeschwemmt. Nach der Sporenzählung mittels Thoma-Zähl-kammer und der Einstellung auf die gewünschte Konzentration wurden die gewonnenen Sporensuspensionen eine Stunde lang auf einem Horizontalschüttler homogenisiert.

Da selbst innerhalb eines Larvenstadiums die Resistenz gegenüber einem Pilzstamm bei steigendem Alter zunehmen kann, erfolgten die Untersuchungen an Larven, welche innerhalb der letzten 24 Stunden geschlüpft waren, bzw. sich gehäutet hatten.

Zur Inokulation wurden die Testlarven für 25 Minuten in kontaminierte Petrischalen gebracht. Die Sporenapplikation und die Inkubation entsprachen der bei der Virulenztestung im Kapitel 4.3 beschriebenen Verfah-

rensweise. Für jedes Larvenstadium wurden pro Pilzstamm 96 Insekten getestet. Zum Vergleich begleitete eine unbehandelte Kontrollvariante den Versuch.

Die abgestorbenen Larven wurden täglich ausgesondert und mit 96%-igem Alkohol sowie einer Jodtinktur äußerlich desinfiziert. Zum Nachweis der Infektion wurden die Insektenkadaver anschließend in feuchte Kammern überführt. Die Erfolgsbonitur wurde sieben Tage nach der Inokulation vorgenommen.

Um die Sterblichkeit der unbehandelten Kontrolltiere berücksichtigen zu können, wurde zur Auswertung der Versuchsergebnisse der Wirkungsgrad für die verschiedenen Pilzstämme nach SCHNEIDER - ORELLI errechnet (FRÖHLICH 1979). Der Vergleich der Varianten erfolgte anhand des angenäherten 95%-Vertrauensbereiches (SACHS 1992).

4.6 Einfluß der Sporenformulierung auf die Wirksamkeit der Pilze

Einfluß auf die Infektiosität der Pilze

Um die Wirksamkeit unterschiedlich formulierter Konidienpräparate zu testen, wurden 24 h alte L₁, L₅ sowie Imagines von *P. interpunctella* behandelt. Die Untersuchungen erfolgten mit den virulenteren Pilzstämmen M.a.110 und B.ba.56.

Die Sporen wurden nach der in Kapitel 4.3 beschriebenen Verfahrensweise gewonnen. Für jedes Pilzisolat wurden drei verschiedene Formulierungen zubereitet. Als Wassersuspension diente die mit sterilem *aqua dest.* + 0,1% Tween 80 gewonnene Konidiensuspension, die nach dem Homogenisieren auf dem Horizontalschüttler auf die gewünschten Sporentiter eingestellt wurde.

Des weiteren wurde jeder Pilzstamm in Form einer ölhaltigen Konidiensuspension sowie als Sporenstaub getestet. Für die Zubereitung der ölhaltigen Konidiensuspension wurde der aus *aqua dest.* + 0.1 Tween 80 bestehenden Sporensuspension eine entsprechende Menge der Rapsölformulierung *Telmion* (Firma Temmen Hattersheim) beigefügt. *Telmion* ist ein nicht giftiges biologisches Pflanzenschutzmittel und besteht zu 85% aus Rapsöl und aus 15% Emulgator. Die Wasser-Ölformulierungen wurden mit einem Shaker homogenisiert. Der *Telmion* Anteil der Suspension betrug 10%. Die Einstellung auf die gewünschte Konidienkonzentration erfolgte nach Auszählen der Sporen durch Hinzugabe der entsprechenden Menge an *aqua dest.* und *Telmion*.

Für die Herstellung der Sporenstäube diente Laktose. Zunächst wurden die Konidien vorsichtig abgepinselt und bei 30°C im Trockenschrank getrocknet. Den Konidien wurde anschließend eine abgemessene Menge an Laktose beigemischt. Das Homogenisieren erfolgte durch vorsichtiges Vermischen im Mörser. Zur Einstellung der Dosierung wurde 0,01 g des gewonnenen Sporenstaubes in 1 ml sterilem entionisiertem Wasser suspendiert. Nach Auszählung der Konidien mittels Thoma-Zählkammer wurde die zur Einstellung der gewünschten Sporendosierung notwendige Menge an Laktose errechnet und dem Sporenstaub zugegeben. Nach dem Homogenisieren erfolgte erneut eine Sporenzählung. Dieser Vorgang wurde so lange wiederholt, bis der Konidienstaub 1×10^8 Sp. / g Laktose enthielt.

Zur Inokulation der Larven und Imagines wurden die für die beiden Pilzstämme zubereiteten Konidienformulierungen auf Hartpappe appliziert, welche auf der Innenseite von Petrischalen klebte. Die Konidiensuspensionen wurden mittels DC-Sprüngerät mit Treibmittel versprüht. Die Applikation des Sporenstaubs erfolgte mittels Feinsieb. Die Sporendosierungen wurden so gewählt, daß für die einzelnen Versuchsvarianten eine Applikationsdosis von 2×10^3 , 2×10^4 , 2×10^5 und 2×10^6 Sp. / cm² ergab.

Für die beiden Larvenstadien und die Imagines wurden pro Pilzstamm und Formulierung 96 Tiere in die kontaminierten Petrischalen gebracht. Es wurden stets sechs Testinsekten 30 min. behandelt und anschließend in saubere Petrischalen überführt. Die Inkubation erfolgte bei 76% Luftfeuchtigkeit, 25°C und in Dunkelheit.

Die Bonituren der behandelten Imagines erfolgten täglich durch Auszählen der toten und lebenden Falter. Die Erfolgsbonitur der Larven wurde fünf Tage nach Inokulation vorgenommen.

Tote Tiere wurden desinfiziert und in feuchte Kammern 7d lang auf Verpilzungen hin überprüft.

Für die statistische Auswertung der Mortalitätsraten zum Zeitpunkt der Endbonitur diente der Chi²-Test (2 x 2 Kontingenztafelanalyse). Aus den kumulativen Mortalitätsraten der Imagines wurden für jeden Pilzstamm für die 2×10^6 Sp. / cm² Dosierung mittels Probitanalyse die LT₅₀- und LT₉₀-Werte ermittelt.

Zur Ermittlung des Einflusses der Formulierung auf die Infektiosität der Pilzsporen nach erfolgter Anhaftung auf der Wirtsoberfläche wurden in einem weiteren Versuch die beiden Erregerstämme als Wasser- und Wasser-Ölsuspensionen direkt auf frisch geschlüpfte L₅ appliziert. Die Sporendosierungen waren so gewählt, daß die Applikation von 0,1 ml / Testinsekt eine Applikationsdosis von 1×10^2 , 5×10^2 , 1×10^3 , 5×10^3 , 1×10^4 , 5×10^4 , 1×10^5 , 5×10^5 , 1×10^6 und 5×10^6 ergab. Um den Einfluß der Luftfeuchtigkeit auf die Wirksamkeit unterschiedlich formulierter Pilzpräparate zu klären, wurden die Inokulation und die anschließende Inkubation bei 76% und 96% r.F. durchgeführt.

Die Erfolgsbonitur erfolgte fünf Tage nach der Inokulation. Pro Versuchsvariante wurden 4 x 20 Larven getestet.

Aus den Versuchsergebnissen wurden mittels Probitanalysen für jeden Pilzstamm und jede Sporenformulierung in Abhängigkeit von der Luftfeuchtigkeit die LD₅₀-, LD₉₀-Werte sowie die dosierungsabhängigen Mortalitätskurven berechnet.

Einfluß auf die Lagerfähigkeit und Persistenz der Konidien von *B. bassiana* 56 und *M. anisopliae* 110

Die durchgeführten Untersuchungen dienten zur Bestimmung der Lagerfähigkeit unterschiedlich formulierter Konidien von M.a.110 und B.ba.56. Des weiteren sollte das Persistenzverhalten der Pilze unter den im Lager anzutreffenden Bedingungen überprüft werden.

In einem Lagerungsversuch wurde die Keimfähigkeit der Sporen unter verschiedenen Lagerbedingungen in Abhängigkeit von der Zeit ermittelt.

Die Kultur von M.a.110 und B.ba.56 erfolgte auf Hfa bei 25°C für 21 Tage bei Dunkelheit im Brutschrank.

Für die Untersuchungen wurden die Konidien als Wasser - und Wasser-Telmion-Suspension sowie als Laktose-Sporenstaub formuliert. Als Vergleichsvariante wurden unformulierte Konidien getestet. Die Zubereitung der Formulierungen wurde nach der in Abschnitt 4.6 beschriebenen Verfahrensweise vorgenommen.

Die Überprüfung des Keimungsverhaltens in Abhängigkeit von der Zeit erfolgte bei einer Lagertemperatur von 4°C, 16°C und 26°C. Zur Aufbewahrung der Sporenformulierungen dienten autoklavierte geschlossene Plaströhrchen. Die Lagerung des Laktose-Sporenstaubes sowie der unformulierten Konidien erfolgte in geöffneten Röhrchen bei einer von DAOUST und ROBERTS (1983) empfohlenen relativen Luftfeuchtigkeit von 97%.

Zunächst wurde die Keimfähigkeit der Konidien direkt im Anschluß an die Formulierung bestimmt. 1 mg des Sporenstaubes sowie 0,1 mg der reinen Konidien wurden in 1 ml sterilem aqua *dest.* suspendiert. Sämtlichen Sporenpräparate wurde vor der Inkubation Glucose und Pepton aus Kasein hinzugegeben (zu je 0,5%). Anschließend wurden acht Tropfen jeder Sporensuspension auf sterilisierte Objektträger mit Adhäsionswirkung gebracht. Nachdem die

Suspensionen getrocknet waren, erfolgte die Inkubation für 48 h bei 25°C in feuchte Kamern. Einhundert zufällig ausgewählte Sporen wurden unter dem Lichtmikroskop auf ihre Keimung hin geprüft.

Für die Ermittlung der Keimfähigkeit unterschiedlich gelagerter Konidien wurden die Sporenkeimungstests monatlich über einen Zeitraum von ein Jahr wiederholt. Vor jedem Zählvorgang wurde die Anzahl an Sporen ermittelt, die bereits im Verlauf der Lagerperiode keimten. Für den Vergleich der Ergebnisse galten diese Sporen als nicht mehr infektiös.

Begleitend zu den Lagerungsversuchen wurden die Sporenformulierungen auf ihre Persistenz unter lagerähnlichen Bedingungen hin überprüft. Die zubereiteten Sporenformulierungen wurden zunächst auf sterilisierte Objektträger mit Adhäsionswirkung gebracht. Nach dem diese Suspensionen angetrocknet waren, erfolgte die Aufbewahrung in sterilisierten Petrischalen bei 25°C, 76 r.F. und Dunkelheit im Brutschrank. Jede Versuchsvariante wurde 8-fach wiederholt.

Die Bonituren wurden monatlich durch Auszählen keimungsfähiger Sporen durchgeführt. Dazu wurden zunächst die angetrockneten Sporen mit H₂O *dest.* + 0,5% Pepton und 0,5% Glucose befeuchtet und analog der oben geschilderten Weise inkubiert.

4.7 Einsatzerprobungen von *B. bassiana* 56, *M. anisopliae* 110 und *P. fumosoroseus* 10 gegen *P. interpunctella*

4.7.1 Untersuchungen zur Wirkung der Pilze auf die Fekundität, Eier und schlüpfende Eilarven sowie auf die Schlupfrate, Lebensdauer und Fekundität der Imagines von *P. interpunctella* nach Applikation auf die Brutsubstratoberfläche

Wirkung auf Fekundität, behandelte Eier und schlüpfende Eilarven

Zur Beurteilung kurativer Effekte einer Pilzbehandlung sind Kenntnisse über die Auswirkung auf die Nachfolgeneration unabdingbar. Ausgehend von den bisher gewonnenen Versuchsergebnissen, war es das Ziel der Untersuchungen, in einem Laborversuch die Wirkung einer Pilz-infektion auf die Fekundität behandelter Weibchen sowie auf behandelte Eier und schlüpfende Eilarven zu überprüfen.

Für den Versuch wurden die Weibchen von *P. interpunctella* zum Zeitpunkt der Kopulation in kontaminierte Petrischalen gebracht. Die Präparation der Petrischalen erfolgte nach der in Abschnitt 4.3 beschriebenen Verfahrensweise. Es wurden M.a.110, B.ba.56 und Paec.f.10 in einer Dosierung von 2×10^6 So. / cm² getestet. Je Behandlungsvariante wurden acht Weibchen überprüft.

Nach Abschluß der Kopulation wurden die Weibchen in saubere Petrischalen überführt.

Die gelegten Eier wurden täglich ausgezählt und mit einem Haarpinsel vorsichtig in mit kontaminiertem Filterpapier ausgelegten Petrischalen übertragen. Es wurde Filterpapier mit einem Durchmesser von 9 cm verwendet, welches sich in der Mitte von 14 cm Petrischalen befand. Der unbehandelte äußere Rand wurde mit Mandeln ausgelegt. Diese Verfahrensweise ermöglichte die Inokulation von Eilarven, die sich nach dem Schlupf zu dem unbehandelten Fraßsubstrat bewegen konnten.

Die Bonituren erfolgten täglich durch Auszählen der geschlüpften Larven. Eine unbehandelte Kontrollvariante begleitete die Untersuchungen.

Für den Vergleich der Anzahl gelegter Eier je Weibchen bei unterschiedlicher Pilzbehandlung erwies sich nach Testung der Daten auf Varianzhomogenität mittels LEVENÉ-Test sowie auf Normalverteilung mittels K-S-LILLEFORS-Test, eine einfaktorielle Varianzanalyse mit anschließendem NEWMAN-KEULS-Test als geeignet.

Für die statistische Berechnung der Versuchsergebnisse zur Eimortalität nach unterschiedlicher Pilzbehandlung erfolgte eine Umformung des Datenmaterials mittels Winkeltransformation (SACHS 1992). Anschließend wurden die transformierten Daten mit Varianzanalyse und NEWMAN-KEULS-Test ausgewertet.

Zur Auswertung der Versuchsergebnisse zum Einfluß der Pilzbehandlung auf die Mortalität der Eilarven wurde der Chi²-Test (2 x 2 Kontingenztafelanalyse) angewendet.

Einfluß der Pilze auf die Schlupfrate, Lebensdauer und Fekundität der Imagines nach Oberflächenbehandlung des Brutsubstrates

Um die Wirksamkeit einer Lagergutoberflächenbehandlung auf die präimaginalen Stadien und schlüpfenden Falter zu ermitteln, wurden in einem Laborversuch Konidien von M.a.110, B.ba.56 und Paec.f.10 in Form einer Wasser-Telmion-Formulierung auf die Oberfläche von Mandelschrot gesprüht.

Für die Kultivierung der Pilze und die Herstellung der Sporensuspensionen dienten die in Abschnitt 4.3 beschriebenen Verfahrensweisen. Die Applikation der Pilzsuspensionen erfolgte mittels DC-Sprüngerät mit Treibmittel.

Für den Versuch wurden 24 h alte Eier verwendet, die von befruchteten Weibchen in Petrischalen gelegt worden waren. Die Eier wurden abgepinselt, ausgezählt und auf die kontaminierte Oberfläche überführt.

Als Versuchsgefäße dienten 0,45 l Gläser, die mit 180 g Mandelschrot gefüllt waren. Die Substratoberfläche je Gefäß betrug etwa 78,5 cm². Diese wurde mit 1 ml einer 5×10^7 Sp. / ml Suspension besprüht. Um ein Entweichen der geschlüpften Falter zu vermeiden, waren die Gläser mit Gaze abgedeckt. Je Gefäß wurden 96 Eier auf die behandelte Brutsubstratoberfläche gegeben. Der Versuch wurde bei 76% r.F. und 25°C durchgeführt und 4-fach wiederholt. Zum Vergleich wurde eine unbehandelte Kontrollvariante angesetzt.

Die Bonituren erfolgten mit Beginn des Falterschlupfes durch Auszählen der täglich das Substrat verlassenden Tiere. Die geschlüpften Falter wurden für jede Behandlung und Wiederholung separat in saubere Zuchtgläser gebracht. Tote Imagines wurden täglich ausgesondert, äußerlich desinfiziert und auf Verpilzung hin in feuchte Kammern untersucht.

Pro Variante und Wiederholung wurden fünf befruchtete Weibchen in saubere Petrischalen überführt. Täglich erfolgte die Auszählung gelegter Eier. Außerdem wurde die Eimortalität festgehalten.

Zur statistischen Auswertung des Anteils geschlüpfter sowie anschließend verpilzter Imagines diente der Chi²-Test (2 x 2 Kontingenztafelanalyse). Für Vergleiche der Lebensdauer von Imagines bei unterschiedlicher Pilzbehandlung wurden die LT₅₀-Werte ermittelt. Für die Auswertung der Anzahl gelegter Eier je Weibchen erwies sich nach Testung auf Varianzhomogenität und Normalverteilung eine einfaktorielle Varianzanalyse mit anschließendem NEWMANN-KEULS-Test als geeignet.

4.7.2 Untersuchungen zur Wirkung einer Konidienanwendung nach Beimischung zum Brutsubstrat einschließlich einer Ausnutzung der Lockwirkung geeigneten Substrates

Die Bestimmung der Wirksamkeit entomopathogener Pilze gegenüber Dörrobstmotten nach Beimischung der Konidien zum Brutsubstrat erfolgte in einem Modellversuch unter lagerähnlichen Bedingungen bei 25°C, 76% r.F., und in Dunkelheit. Zur Kontaminierung wurden Konidien von M.a.110 und B.ba.56 verwendet, die analog der in Abschnitt 4.3. beschriebenen Verfahrensweisen hergestellt und als Sporenstaub formuliert wurden. Als Versuchsgefäße dienten 0,45 l Gläser, die mit 180 g Mandelschrot bzw. gemahlenen Mandeln gefüllt waren. Pro Versuchsgefäß wurden 10 g der Laktose-Formulierung mit einer Dosierung von 5×10^7 Sp. / g Sporenstaub beigemischt. Die Behandlung der Kontrollvarianten erfolgte mit reiner Laktose.

Zur Inokulation wurden Dörrobstmotten-Eier nach der im vorherigen Abschnitt beschriebenen Methode gewonnen und in die mit kontaminiertem Brutsubstrat gefüllten Versuchsgefäße überführt. Es wurden pro Gefäß 96 Eier inokuliert, die innerhalb der letzten 24 h gelegt waren. Der Versuch wurde 4-fach wiederholt. Die geschlüpften Imagines wurden täglich ausgezählt.

Zur Bewertung der Behandlungsmaßnahmen wurde für jede Versuchsvariante der Wirkungsgrad nach SCHNEIDER - ORELLI berechnet. Die statistische Auswertung des Anteils geschlüpfter Imagines erfolgte mittels Chi²-Test (2 x 2 Kontingenztafelanalyse).

Mit dem Ziel, die Lockwirkung von Röstaromen auf Weibchen der Dörrobstmotte für die Entwicklung einer mikrobiellen Anwendungstechnologie auszunutzen, wurde gerösteter und mit Pilzsporen kontaminierter Mandelbruch verwendet, welcher nach HOPPE (1981) die Eiablage der Weibchen stimuliert. Zur Beurteilung der Wirksamkeit einer Behandlung von Brutsubstrat mit hoher Attraktivität auf befruchtete Weibchen, wurden den Insekten gleichzeitig unbehandelte Alternativsubstrate angeboten. Als Brutsubstrat dienten lose Haferflocken bzw. ungerösteter verpackter Mandelbruch. Dazu wurden 25 cm x 8 cm x 4 cm Pappkartons verwendet.

Die Sporengewinnung, Formulierung und Kontamination des gerösteten Mandelbruchs erfolgten nach der oben beschriebenen Verfahrensweise mit dem als wirksamer angesehenen Pilzstamm M.a.110.

Die Untersuchungen wurden in 80 cm x 40 cm x 40 cm Käfigen bei 25°C und 70%r.F. ($\pm 5\%$) durchgeführt. Vor dem Freilassen der befruchteten Weibchen wurden in jedem Versuchskäfig ein 450 ml Glasgefäß mit 180 g kontaminiertem und geröstetem Mandelbruch sowie die gleiche Menge eines unbehandelten Alternativsubstrates aufgestellt. Als Kontrollvariante wurden Käfige ohne behandeltem Brutlockstoff angesetzt. Pro Käfig wurden vier befruchtete Weibchen freigelassen.

Nach 21 Tagen wurden sämtliche Gefäße bzw. Verpackungen aus den Käfigen entfernt und einzeln aufbewahrt, um anhand des Falterschlupfes die Wirksamkeit der Behandlungsmethode bestimmen zu können.

Der Versuch wurde 4-fach wiederholt.

Zur Auswertung wurde die Anzahl pro Käfig geschlüpfter Imagines ermittelt. Für die statistische Verrechnung der Ergebnisse erfolgte nach dem Test auf Varianzhomogenität und Normalverteilung ein Vergleich mittels t-Test zwischen der Anzahl geschlüpfter Falter in Käfigen mit und ohne geröstetem und Pilz kontaminiertem Mandelbruch.

4.7.3 Untersuchungen zur Wirkung einer Konidienanwendung nach Oberflächenbehandlung von Verpackungsmaterial

Die Bestimmung der Wirksamkeit einer Behandlung von Verpackungsmaterial mit Sporen entomopathogener Pilze erfolgte in einem Laborversuch bei 25°C, bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von etwa 70% ($\pm 5\%$) und in Dunkelheit.

Als Verpackung dienten 25 cm x 8 cm x 4 cm große Pappkartons, die zunächst zur Beseitigung von anhaftenden Mikroorganismen, welche die Wirkung der Pilzpräparate beeinflussen könnten, für 20 min. bei 120°C autoklaviert wurden. Jeder Karton wurde mit 200 g Mandelbruch gefüllt. Zum Verschließen der Einfüllöffnungen diente Tesafilm. Zur Kontamination der Verpackungen wurden die Pilzsporen als Wasser-Ölformulierung (10% Telmion) mittels DC-Sprüngerät mit Treibmittel auf die Oberfläche der Kartons versprüht. Bei den Un-

tersuchungen dienten Konidien von M.a.110 und B.ba.56 als Inokulum. Die Sporen wurden in einer Dosierung von etwa 5×10^6 Sp./ cm² ausgebracht. Den Kontrollvarianten wurde Wasser-Telmion zugegeben, oder sie blieben unbehandelt.

Nach der Kontamination erfolgte die Aufstellung der mit Mandelbruch gefüllten Verpackungen in Versuchskäfigen (Breite: 40 cm, Länge: 80 cm, Höhe: 40 cm). In jedem Käfig wurden acht Kartons untergebracht und anschließend eine unterschiedliche Anzahl befruchteter Dörrobstmottenweibchen freigelassen. Es wurden Varianten mit 2, 4 und 8 Weibchen pro Käfig angesetzt. Diese Verfahrensweise sollte es ermöglichen, Informationen über die Wirksamkeit behandelten Verpackungsmaterials bei unterschiedlicher Schaderregerdichte zu gewinnen. Pro Behandlungsvariante und für jede Schädlingsdichte erfolgten vier Wiederholungen. 28 d nach dem Zusetzen der Insekten wurde die Erfolgsbonitur durchgeführt. Erfaßt wurde die Anzahl lebender Larven. Für die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse erwies sich eine zweifaktorielle Varianzanalyse als geeignet.

4.7.4 Untersuchungen zur Übertragung der Konidien von *M. anisopliae* 110 unter Ausnutzung der Lockwirkung von Sexualpheromonen der Dörrobstmotte

Die Untersuchungsergebnisse zum Einfluß einer Pilzbehandlung von Dörrobstmotten-Weibchen zum Zeitpunkt der Kopulation veranschaulichten eine deutliche Auswirkung auf die Fekundität der Insekten (s. 5.7.1).

Im Verlauf der vorliegenden Untersuchungen sollte in einem Flugversuch überprüft werden, ob mit Hilfe des Sexualpheromons TDA frisch geschlüpfte Dörrobstmotten-Männchen an eine mit Pilzsporen kontaminierte Stelle angelockt werden können, um mit Konidien inokuliert zu werden und um anschließend die Erreger während der Kopulation auf gesunde Weibchen zu übertragen.

Die Untersuchungen erfolgten mit dem gegenüber adulten Dörrobstmotten wirksameren Laktose-Konidienstaub.

Zunächst wurden die von 21 Tage alten Pilzkulturen geernteten Konidien angefärbt, um die Kontamination der Männchen sowie die Übertragung der Sporen auf die Weibchen unter dem Fluoreszenzmikroskop nachweisen zu können. Als Farbstoff diente Acridinorange, welches zunächst in 0,1 mol Natriumphosphat Puffer bei pH 8,0 gelöst wurde. Die Herstellung des Puffers erfolgte analog der von SCHULZE und GRAUPNER (1960) beschriebenen Verfahrensweise. 1 ml der Acridinorange-Lösung wurde jeweils zu 1 g trockenen *Metarhizium anisopliae* - Konidien zugegeben. Die anschließende Trocknung der gefärbten Sporen erfolgte im Trockenschrank bei 30°C.

Zur Herstellung der Formulierung wurden die gefärbten Konidien nach der im Abschnitt 4.6 beschriebenen Verfahrensweise mit dem Laktose-Pulver vermischt. Die Sporenkonzentration betrug 1×10^8 Sp. / g Laktose.

Für den Modelversuch wurden zwei geschlossene Räume mit folgenden Abmessungen ausgewählt:

Raum A 175 cm x 120 cm x 230 cm ; Raum B 175 x 175 x 230 (Länge x Breite x Höhe).

In der Mitte jedes Versuchsraumes wurde ein offener Pappkarton (50 cm x 50 cm x 10 cm) aufgestellt, dessen Innenflächen zuvor mit dem angefärbten Sporen-Laktose-Staub kontaminiert worden sind. Für jeden Karton

wurden 10 g des Konidienstaubes mit Hilfe eines Siebes appliziert. Im Zentrum des behandelten Kartons befand sich der Pheromon-Köder (Firma Temmen Hattersheim).

Um sicherzustellen, daß die Insekten vor der Kopulation in die Versuchsräume kamen, erfolgte zunächst eine Sortierung der Puppen von *Plodia interpunctella* nach ihrem Geschlecht. In jedem Versuchsraum wurden 50 Männchen und 50 Weibchen angesetzt.

21 Tage nach Beginn des Flugversuches wurden sämtliche toten Motten aufgesammelt und auf anhaftende Pilzsporen hin unter dem Fluoreszenzmikroskop untersucht.

5 Ergebnisse

5.1 Zur Pathogenität geeigneter Pilzstämmen

Bei der Pathogenitätsprüfung der Pilzstämmen gegenüber frisch geschlüpften Imagines der Mehlmotte und der Dörrobstmotte erwiesen sich folgende Pilzstämmen als pathogen: *M. anisopliae* 73 (M.a.73), *M. anisopliae* 110 (M.a.110), *B. bassiana* 56 (B.ba.56), *P. farinosus* 34 (Paec.f.34) und *P. fumosoroseus* 10 (Paec.f.10).

Die kumulativen Mortalitätsraten sind in Abbildung 1 und 2 dargestellt. Der im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle deutlich steilere Anstieg der kumulativen Mortalität ist bei den oben aufgeführten Pilzstämmen erkennbar. Nach STEIN (1986) leben die Imagines der Mehlmotte und der Dörrobstmotte etwa zwei bis drei Wochen. Die Mortalitätskurven mit entomopathogenen Pilzstämmen behandelter Falter zeigen ein Absterben der Insekten innerhalb der ersten 12 Tage.

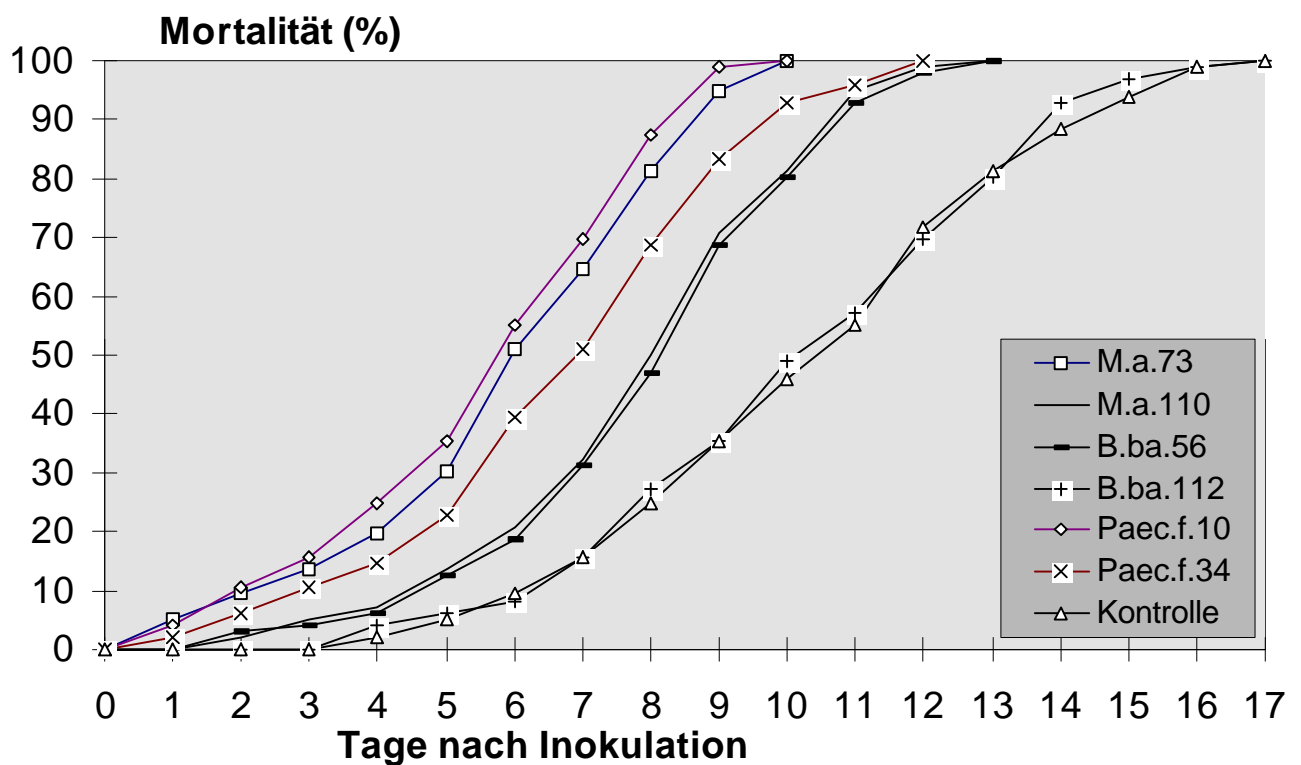


Abb.1: Mortalität adulter *Ephestia kuehniella* nach Inokulation entomopathogener Pilze

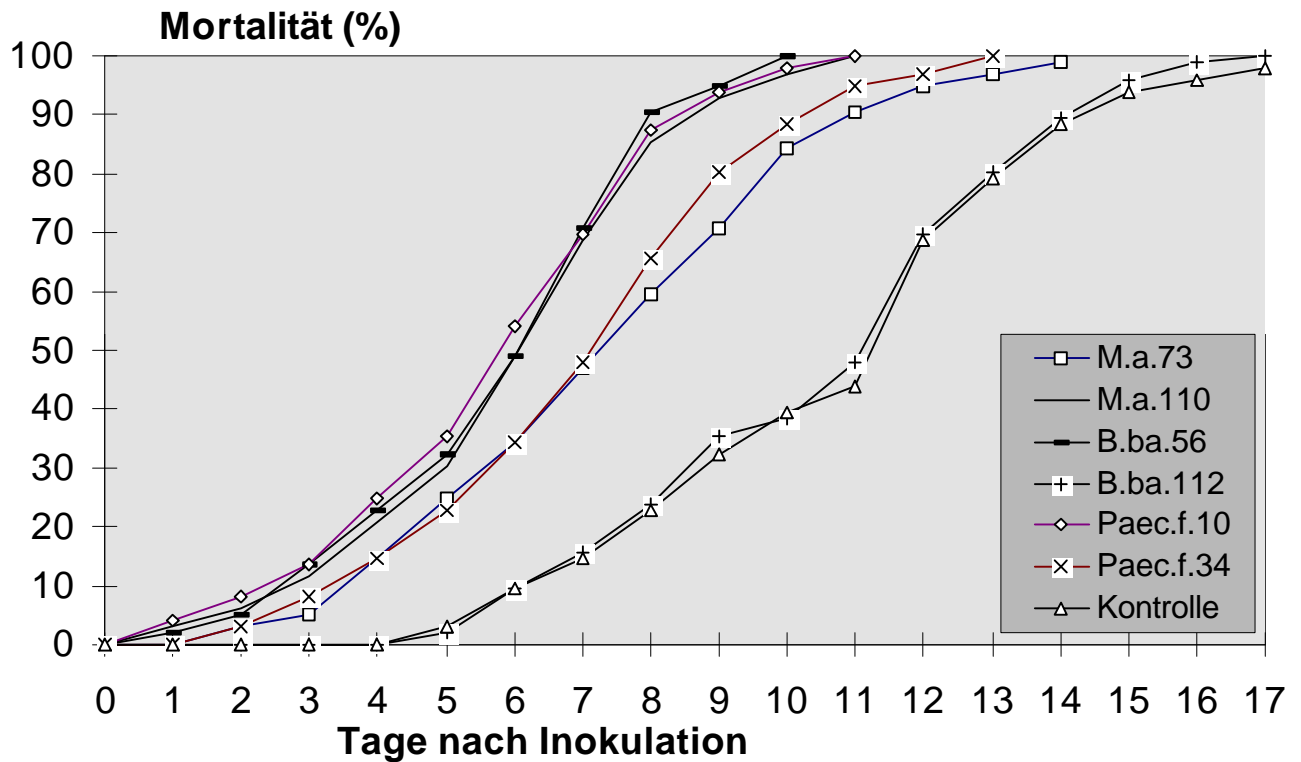


Abb.2: Mortalität adulter *Plodia interpunctella* nach Inokulation entomopathogener Pilze

Mit pathogenen Pilzstämmen behandelte Insekten zeigten nach dem Einlegen der abgestorbenen Kadaver in feuchte Kammern die für den Krankheitsverlauf charakteristischen äußeren Symptome. Sämtliche Erreger, welche ihre Wirte schnell abtöteten, waren auch in der Lage, das Integument der Wirte zu durchbrechen und anschließend darauf zu fruktifizieren. Die Bildung von Luftmycel auf den toten Insekten war 7-12 Tage nach der Inokulation erkennbar. Das Durchwachsen des Integuments nach außen erfolgte bevorzugt an Körperstellen mit dünner Chitinschicht.

Die bei toten Faltern beobachteten Verpilzungen werden in den Abbildungen 5 und 6 gezeigt.

Bei *B. bassiana* Stamm 112 konnte eine Pathogenität gegenüber den getesteten Wirtstieren nicht nachgewiesen werden. Die kumulativen Mortalitätsraten mit B.ba.112 behandelte adulter Dörrobstmotten und Mehlmotten unterscheiden sich nicht zu unbehandelten Kontrolltieren. Es kann davon ausgegangen werden, daß es sich um einen avirulenten Pilzstamm handelt. Aus diesem Grund wurde *B. bassiana* 112 für die weiteren Untersuchungen nicht berücksichtigt.

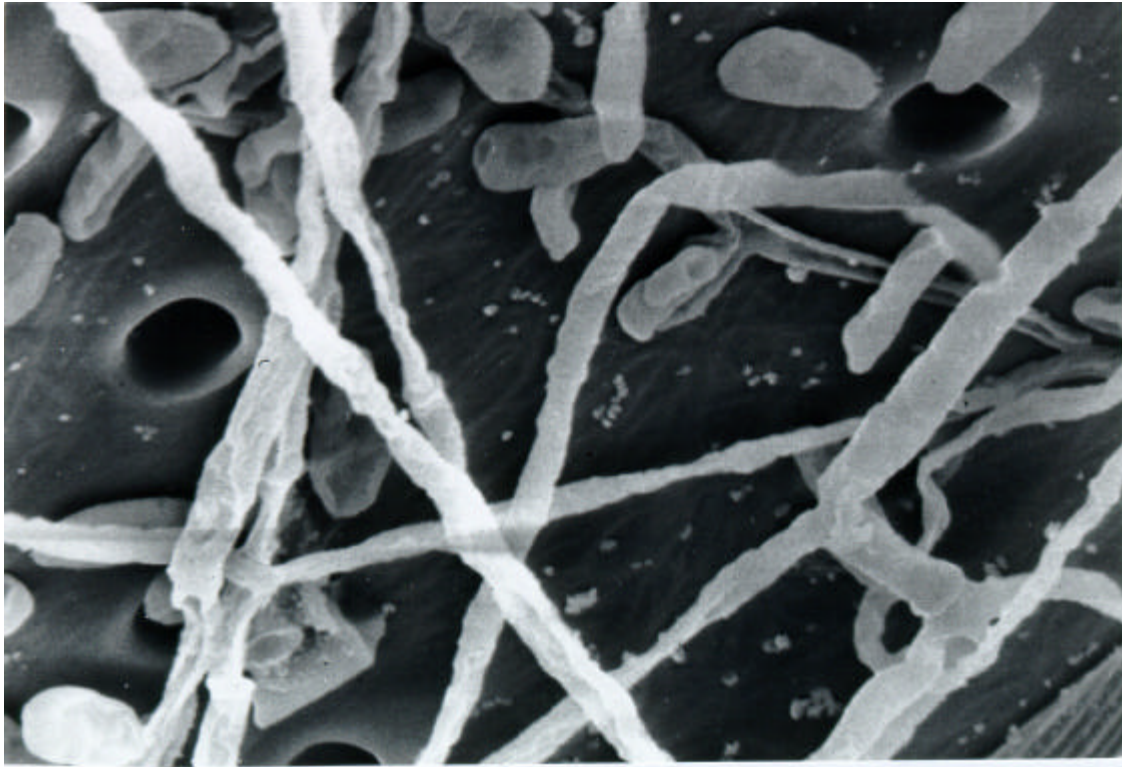


Abb.3: Hyphen und Konidien von *Metarhizium anisopliae* auf dem Femur von *Ephestia kuehniella* (Vergrößerung: 3000-fach)

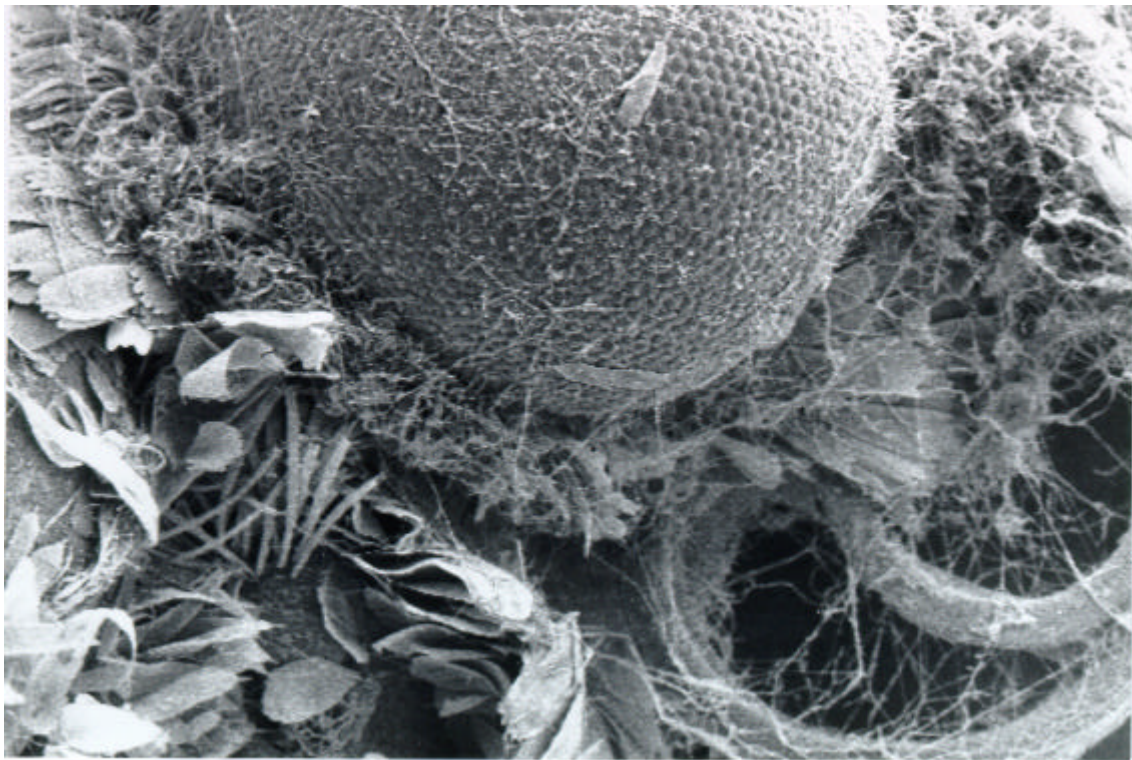


Abb.4 : Hyphen von *Metarhizium anisopliae* am Kopf von *Ephestia kuehniella* (Vergrößerung: 100-fach)



Abb.5: Durch *Paecilomyces fumosoroseus* abgetötetes Imago von *Ephestia kuehniella* (natürliche Größe 10-14 mm)

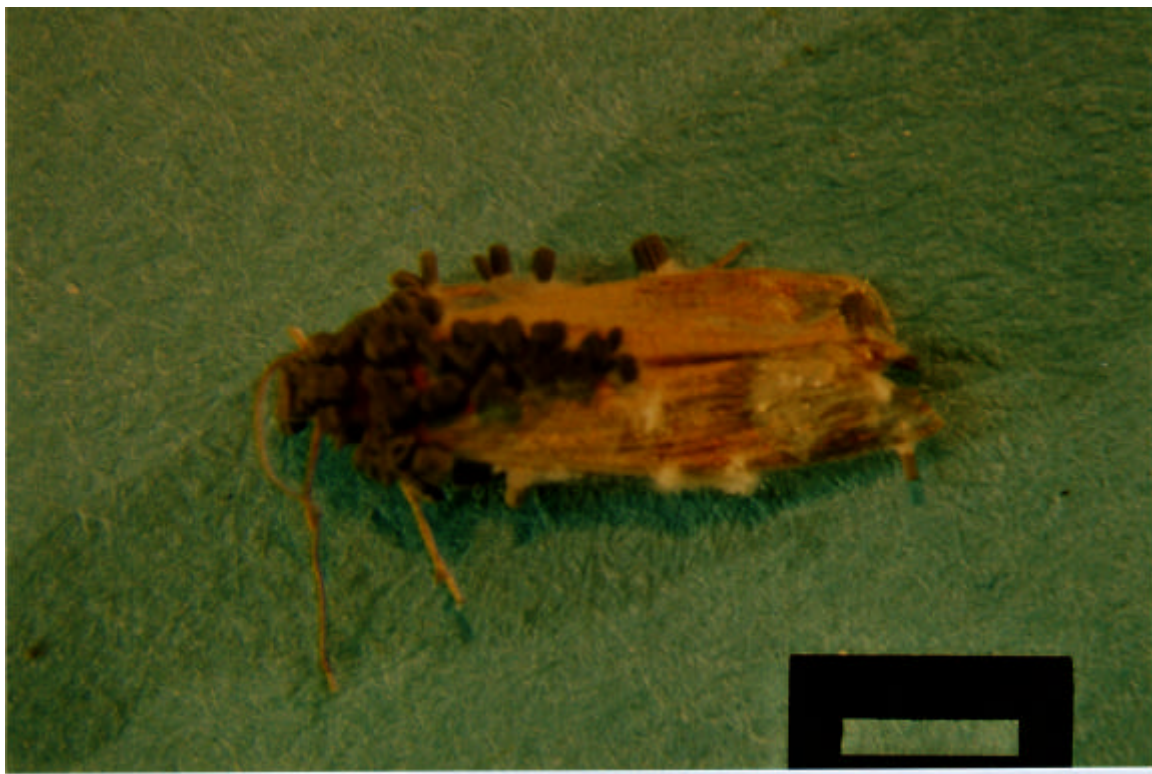


Abb.6: Durch *Metarhizium anisopliae* abgetötetes Imago von *Ephestia kuehniella* (natürliche Größe 10-14 mm)

5.2 Zur Virulenz entomopathogener Pilzstämme

5.2.1 Virulenz in Abhängigkeit von Pilzstamm und Wirtsart

Genaue Kenntnisse über die Virulenz insektenpathogener Pilze sind für die erfolgreiche Nutzung der Pilze im Rahmen von Verfahren des biologischen Pflanzenschutzes unentbehrlich.

Zur Ermittlung der Isolat - Virulenz gegenüber frisch geschlüpften Imagines von *E. kuehniella* und *P. interpunctella* diente der Anteil nachweisbar durch die Erreger abgetöteter Falter sowie die Mortalitätskurven. Die Virulenzen der getesteten Pilzstämme wurden mittels indirekter Konidienapplikation geprüft und wurden somit auch von der Fähigkeit der Pilzsporen, auf der Insektenkutikula zu haften, beeinflusst. Diese Vorgehensweise war von Vorteil, um erste Rückschlüsse auf eine praktische Anwendbarkeit ziehen zu können.

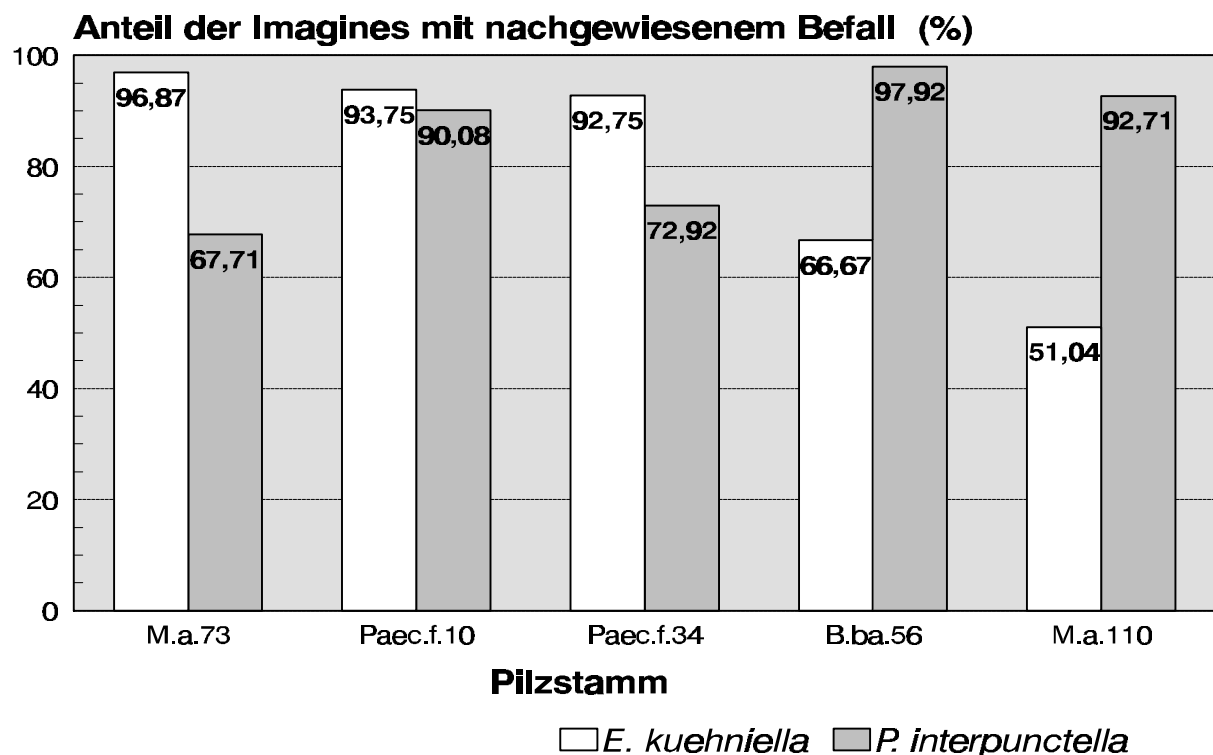


Abb.7: Anteil der Imagines von *E. kuehniella* und *P. interpunctella* mit nachgewiesenem Befall nach indirekter Inokulation von Konidien verschiedener entomopathogener Pilzstämme

Die Abbildung 7 zeigt den Anteil der nachweisbar durch die Pilze abgetöteten Imagines von *E. kuehniella* und *P. interpunctella*. Der paarweise Vergleich zwischen den einzelnen Versuchsvarianten ist in Tabelle 4 dargestellt.

Tab. 4: Vergleich entomopathogener Pilzstämme hinsichtlich der von ihnen verursachten Mortalitätsraten bei Imagines von *E. kuehniella* und *P. interpunctella* (Chi²-Test / 2 x 2 Kontingenztafelanalyse für $\alpha = 0,05$)

Wirt	Pilzstamm	<i>Ephestia kuehniella</i>					<i>Plodia interpunctella</i>				
		M.a.110	M.a.73	B.ba.56	Paec.f.10	Paec.f.34	M.a.110	M.a.73	B.ba.56	Paec.f.10	Paec.f.34
<i>Ephestia kuehniella</i>	M.a.110		+			+	+		+		
	M.a.73	+		+				+			+
	B.ba.56		+		+	+	+			+	+
	Paec.f.10	+		+				+			+
	Paec.f.34	+		+				+			+
<i>Plodia interpunctella</i>	M.a.110	+		+				+			+
	M.a.73		+		+	+	+		+	+	
	B.ba.56	+		+				+			+
	Paec.f.10	+		+				+			+
	Paec.f.34		+		+	+	+		+	+	

(+ signifikante Differenzen bei paarweisem Vergleich)

Die verwendeten Pilzstämme erbrachten für die getesteten Mottenimagines teilweise äußerst verschiedene Mortalitätsraten.

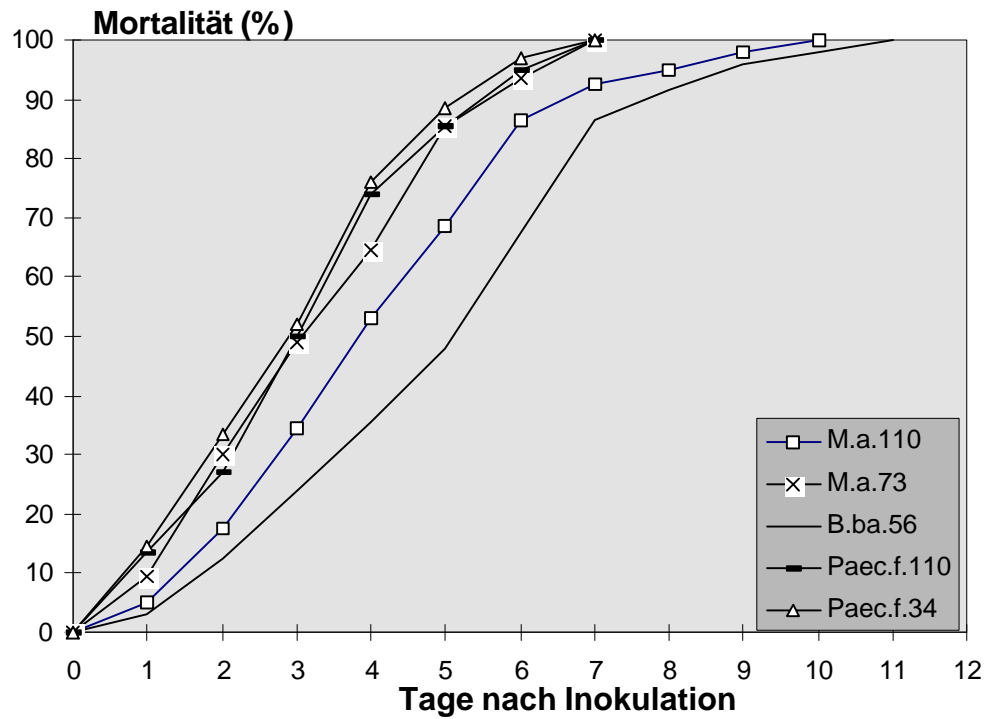
Gegenüber der Dörrobstmotte war B.ba.56 am virulentesten. Der Anteil der nachweisbar durch diesen Erreger abgetöteten Dörrobstmottenimagines beträgt 98%. Zieht man die Ergebnisse der Kontingenztafelanalyse in Betracht, so sind die Mortalitätswerte von B.ba.56, M.a.110 und Paec.f.10 auf gleichem statistischen Niveau, während die Mortalitätswerte von M.a.73 und Paec.f.34 signifikant geringer sind.

Hinsichtlich der Virulenz gegenüber der Mehlmotte ergibt sich folgende Reihenfolge: M.a.73 \geq Paec.f.10 \geq Paec.f.34 > B.ba.56 > M.a.110.

Die Mortalitätsraten von M.a.73, Paec.f.10 und Paec.f.34 sind signifikant höher als von B.ba.56 und M.a.110.

In der Abbildung 8 sind die Mortalitätskurven der untersuchten Motten in Abhängigkeit von der Pilzbehandlung dargestellt. Da ein Teil der behandelten Tiere von den weniger virulenten Pilzstämmen nicht infiziert wurde, tritt die Verzögerung des Absterbens bei diesen Insekten besonders am Ende deutlich hervor.

Ephestia kuehniella



Plodia interpunctella

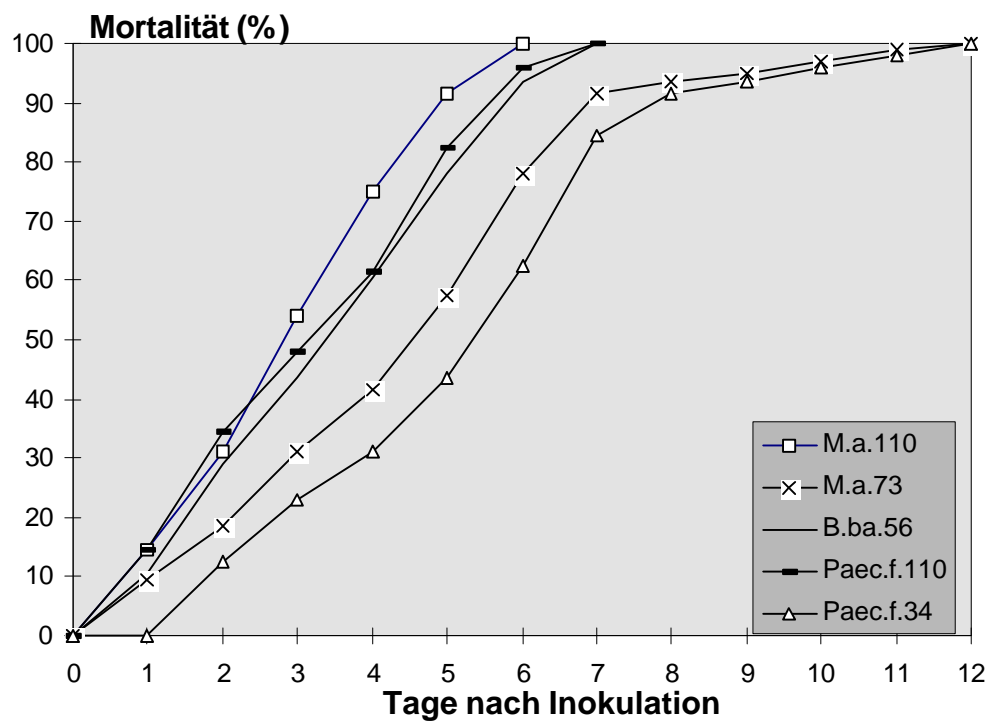


Abb. 8: Mortalität bei Imagines von *E. kuehniella* und *P. interpunctella* nach künstlicher Inokulation unterschiedlicher entomopathogener Pilze

Die Ergebnisse zeigen darüber hinaus, daß die meisten Pilzstämme unterschiedliche Mortalitätsraten bei *P. interpunctella* und *E. kuehniella* verursachen. Bei statistischer Betrachtung der Mortalitätsraten ist für die Pilzstämme M.a.110, M.a.73, B.ba.56 und Paec.f. 34 eine Wirtsabhängigkeit der Virulenz erkennbar. Lediglich der Pilzstamm Paec.f.10 verursacht bei *P. interpunctella* und bei *E. kuehniella* eine annähernd gleiche Mortalitätsrate von 90,8% bzw. 93,8% und ist somit gegenüber beiden Testorganismen hoch virulent.

Die im Versuch gewählten Bedingungen erleichterten den Kontakt zwischen Erreger und Wirt sowie die Konidienkeimung und die Pilzpenetration. Die geringen Mortalitätsraten von M.a.73 und Paec.f.34 gegenüber der Dörrobstmotte sowie von M.a.110 und B.ba.56 gegenüber der Mehlmotte lassen auf eine geringe Virulenz der Pilzstämme gegenüber diesen Wirtsinsekten schließen. Da man davon ausgehen kann, daß unter praxisnahen Bedingungen die Wirksamkeit dieser Pilzstämme sich noch verschlechtert, wurden für den weiteren Verlauf der Untersuchungen folgende Pilzstämme ausgewählt: gegenüber der Dörrobstmotte M.a.110, B.a.56 und Paec.f.10; gegenüber der Mehlmotte M.a.73, Paec.f.10 und Paec.f.34.

5.2.2 Virulenz in Abhängigkeit von ökologischen Infektionsbedingungen

5.2.2.1 Einfluß der Temperatur

Voraussetzung für eine hohe Virulenz ist die Vitalität der Sporen, welche durch hohe Keimfähigkeit und -geschwindigkeit charakterisiert ist (AL-AIDROOS und SEIFERT 1980). Die erzielten Untersuchungsergebnisse zum Keimungsverhalten bei unterschiedlichen Temperaturen sind in den Abbildungen 9 und 10 dargestellt. Die Abbildung 9 zeigt den Anteil gekeimter Sporen nach 36 h Inkubationszeit.

Grundsätzlich lassen sich aus den erhaltenen Werten für sämtliche Pilzstämme hohe Wärmeansprüche für die Konidienkeimung ableiten. Diese Ergebnisse stimmen mit zahlreichen Angaben in der Literatur überein. Das Temperaturoptimum für *M. anisopliae* liegt nach DIAMONDÉ (1969) bei etwa 28°C. FERRON (1978) ermittelte für *B. bassiana* ein Optimum bei 25 °C.

Bei 25°C keimten nach 36 h die Mehrzahl der Pilzstämmen zu 100%. Einzige Ausnahme stellen die für Paec.f.34 ermittelten Keimungsraten dar. Hier waren nach 36h bei 25°C 63% der Sporen gekeimt. Am geringsten wurde die Keimfähigkeit der beiden *Metarhizium*-Stämme von der Inkubationstemperatur beeinflusst. M.a.110 keimte nach 36h bei 15°C zu 75%, bei 20°C zu 96%, bei 25°C und 30°C zu je 100%. Den größten Einfluß hatte die Temperatur bei Paec.f.10. Bei 15°C keimten 49%, bei 20°C 75%, bei 25°C 100% und bei 30°C 66% der Sporen.

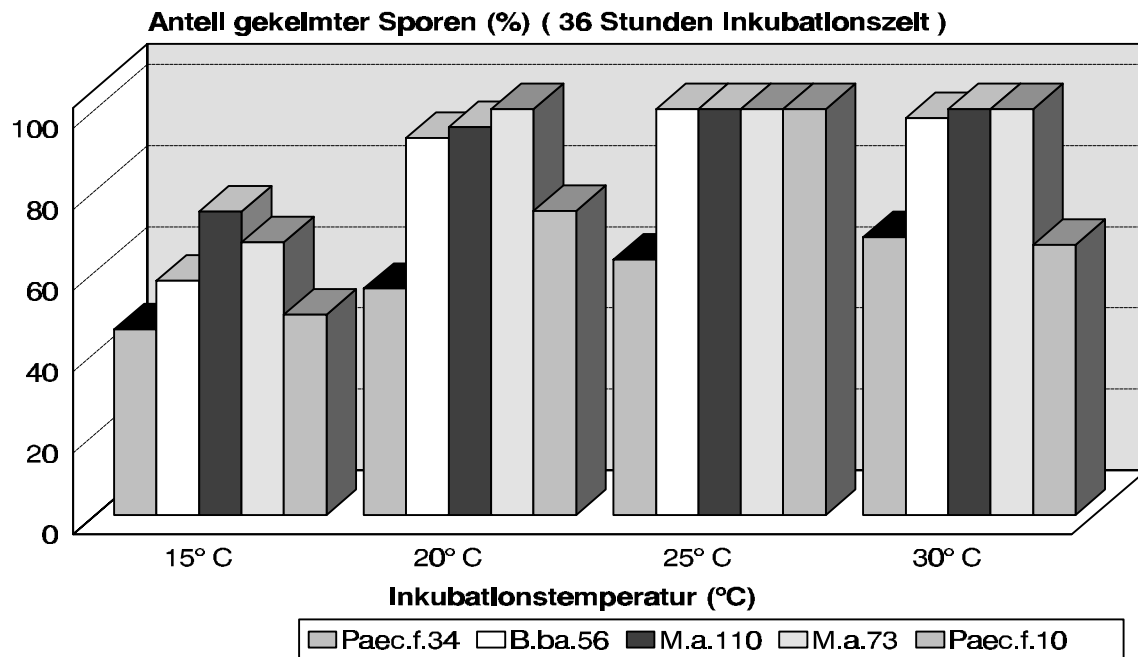


Abb.9: Keimungsprozente insektenpathogener Pilze in Abhängigkeit von der Inkubationstemperatur (Inkubationszeit: 36h)

Die ermittelten T_{G50} -Werte sind in Abbildung 10 dargestellt und lassen neben den temperaturbedingten Unterschieden im Keimverhalten der einzelnen Pilzstämmen auch Differenzen zwischen den Pilzstämmen erkennen

Das ungenügende Keimungsverhalten von Paec.f.34 bei sämtlichen Temperaturstufen wird durch die T_{G50} ebenfalls verdeutlicht. In dem für die Mottenbekämpfung wichtigen Temperaturbereich zwischen 20 und 30°C benötigen Konidien von Paec.f.34 signifikant längere Keimungszeiten als die übrigen Pilzstämmen und keimten zu 50% erst nach 19 bzw. nach 21 Stunden. Lediglich Paec.f.110 unterscheidet sich bei 20°C nicht signifikant von Paec.f.34.

Am schnellsten keimten M.a.73 und M.a.110 bei 25°C. So betrugen ihre T_{G50} jeweils etwa 10 Stunden.

Aus Abbildung 10 ist weiterhin ersichtlich, daß sich bei steigender Inkubationstemperatur die Vertrauensbereiche der T_{g50} -Werte vergrößern.

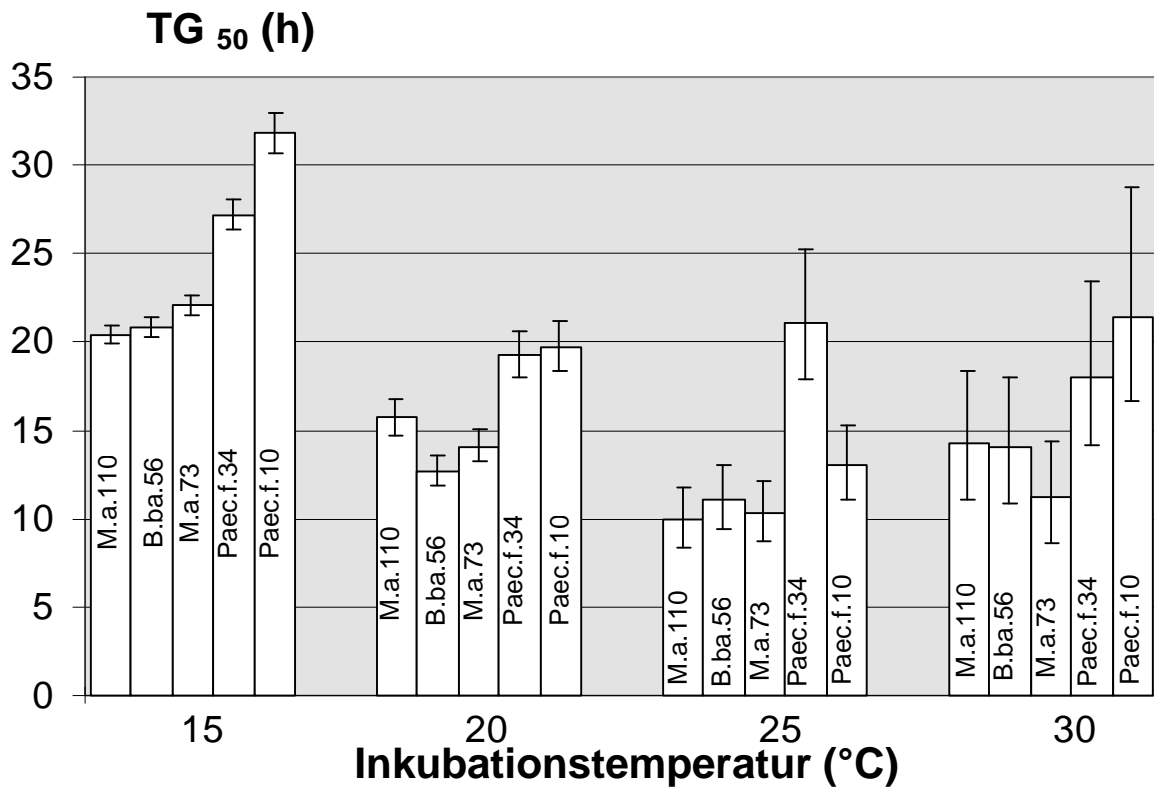


Abb.10:Einfluß der Inkubationstemperatur auf die Keimungsgeschwindigkeit von Konidien insektenpathogener Pilze

5.2.2.2 Einfluß der relativen Luftfeuchtigkeit

Die erzielten Untersuchungsergebnisse sind in Abbildung 11 dargestellt. Insgesamt war bei Verringerung der relativen Luftfeuchtigkeit ein erheblicher Rückgang der Virulenz bei fast allen Pilzstämmen zu verzeichnen.

Die ermittelten LT_{90} - Werte lassen darüber hinaus erhebliche Differenzen zwischen den beiden Wirtsinsekten erkennen. Der Abfall der Virulenz nach einer Verringerung der umgebenden Luftfeuchtigkeit war bei den Pilzstämmen, die gegenüber *E. kuehniella* getestet wurden deutlich größer als bei den Pilzstämmen, welche gegenüber *P. interpunctella* eingesetzt wurden. So zeigte ein Vergleich der LT_{90} - Werte bei 95% Luftfeuchtigkeit nur geringe Virulenzunterschiede der eingesetzten Pilzstämmen gegenüber den beiden Mottenarten. Bei 75% Luftfeuchtigkeit sind die Absterbezeiten von Dörrobstmotten jedoch signifikant geringer als die der be-

handelten Mehlmotten. Der Einfluß der Wirtsart auf den Verlust an Virulenz bei verringerter Luftfeuchtigkeit tritt bei Paec.f.10 besonders deutlich hervor. Mit Paec.f.10 behandelte Mehlmotten lebten bei 95% Luftfeuchtigkeit etwa genau so lange wie behandelte Dörrobstmotten (LT_{90} = 5,7 bzw. 5,6 Tage). Eine Verringerung der Luftfeuchtigkeit führte dazu, daß 90% mit Paec.f.10 behandelte Mehlmottenimagines 10 Tage lebten. 90% der behandelten Dörrobstmottenimagines starben bei 75% Luftfeuchtigkeit jedoch bereits nach 7,8 Tage.

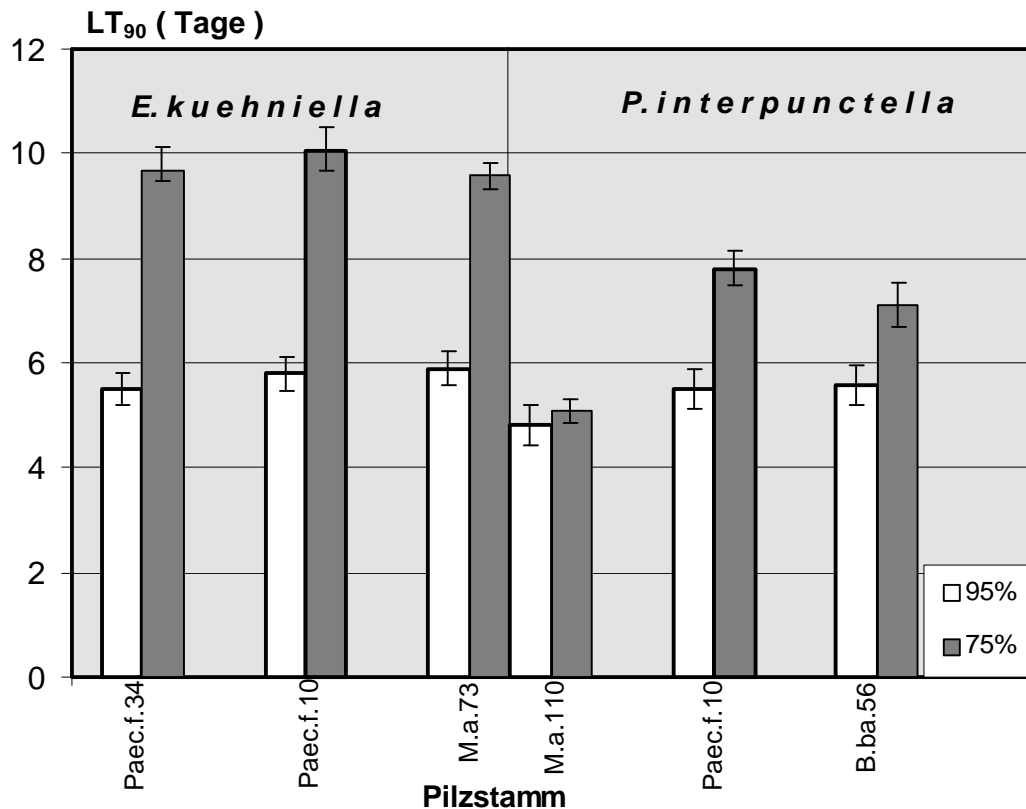


Abb.11 : Einfluß der relativen Luftfeuchtigkeit auf die Virulenz entomopathogener Pilzstämmе

M.a.110 ist der virulenteste Pilzstamm. Die durch M.a.110 verursachten Absterbezeiten sind bei 95% und 75% Luftfeuchtigkeit signifikant die kürzesten. Eine Verringerung der Luftfeuchtigkeit von 95 auf 75% führte bei diesem Pilzstamm zu keiner signifikanten Verschlechterung der Virulenz gegenüber Dörrobstmottenimagines.

5.2.3 Virulenz in Abhängigkeit vom Ernährungszustand des Pilzes

Einfluß auf die Sporulation

Die von der Nährbodenzusammensetzung ausgehende Wirkung auf die Sporulation von entomopathogenen Pilzstämmen wird aus der Tabelle 5 deutlich erkennbar. Es ist ersichtlich, daß die Anzahl je cm² Nährbodenoberfläche gebildeter Konidien bei verschiedenen Nährböden teilweise sehr unterschiedlich ist.

Die verwendeten Nährböden erbrachten differenzierte Ergebnisse hinsichtlich der Sporulation bei verschiedenen Pilzstämmen. Bei der *in vitro* Kultur bewirkten Hfa, Riba Gluc, CzD Gluc und MPA bei sämtlichen Pilzstämmen eine ausreichende Sporulation. SPA eignet sich hingegen nur zur Konidienproduktion bei M.a.73 und M.a.110.

Die ermittelten Werte lassen darüber hinaus teilweise große Unterschiede im Sporulationsvermögen zwischen den Pilzstämmen erkennen. Die Kultur von M.a.110 zeigte auf allen Nährböden eine hervorragende Konidienbildung. B.ba.56 und Paec.f.110 sporulierten auf sieben der acht getesteten Nährböden gut. Die *in vitro* Kultur von M.a.73 und Paec.f.34 erbrachte hingegen nur auf 5 bzw. 4 der getesteten Nährböden eine zufriedenstellende Konidienbildung.

Aus den 95%-Vertrauensbereichen sowie den im Anhang Abbildung A-2 dargestellten empirischen Verteilungen für die Sporulation verschiedener Pilzstämmen wird ersichtlich, daß die Nährbodenzusammensetzung neben der Anzahl je cm² gebildeter Sporen auch die Verteilung der Konidienbildung beeinflußt.

Tab. 5 : Einfluß der Nährbodenzusammensetzung auf die Sporulation
entomopathogener Pilze (21 Tage Inkubation, 8 Wiederholungen)

Pilzstamm	Nährboden	Mittlere Anzahl der Konidien je cm ² Nährboden	95% Vertrauensbereich (Konidien / cm ²)
M.a.110	LPA	$2,00 \times 10^7$	$1,34 \times 10^7 - 2,66 \times 10^7$
	MPA	$1,86 \times 10^7$	$1,56 \times 10^7 - 2,15 \times 10^7$
	SPA	$9,65 \times 10^6$	$8,90 \times 10^6 - 1,03 \times 10^7$
	CzD Gluc	$8,96 \times 10^6$	$8,26 \times 10^6 - 9,66 \times 10^6$
	CzD Glyc	$1,59 \times 10^7$	$1,16 \times 10^7 - 2,02 \times 10^7$
	HFA	$3,32 \times 10^7$	$2,98 \times 10^7 - 3,66 \times 10^7$
	Riba Gluc	$2,27 \times 10^7$	$1,96 \times 10^7 - 2,58 \times 10^7$
	Riba Sacch	$3,07 \times 10^7$	$2,83 \times 10^7 - 3,31 \times 10^7$
M.a.73	LPA	$1,54 \times 10^6$	$9,03 \times 10^5 - 2,19 \times 10^6$
	MPA	$4,18 \times 10^7$	$3,51 \times 10^7 - 4,89 \times 10^7$
	SPA	$1,98 \times 10^7$	$1,39 \times 10^7 - 2,56 \times 10^7$
	CzD Gluc	$9,58 \times 10^6$	$8,91 \times 10^6 - 1,02 \times 10^7$
	CzD Glyc	$9,27 \times 10^5$	$8,57 \times 10^5 - 9,97 \times 10^5$
	HFA	$3,20 \times 10^7$	$2,35 \times 10^7 - 4,04 \times 10^7$
	Riba Gluc	$2,18 \times 10^7$	$1,77 \times 10^7 - 2,60 \times 10^7$
	Riba Sacch	$1,75 \times 10^6$	$9,47 \times 10^5 - 2,55 \times 10^6$
B.ba.56	LPA	$1,33 \times 10^7$	$1,04 \times 10^7 - 1,62 \times 10^7$
	MPA	$8,42 \times 10^6$	$7,94 \times 10^7 - 8,90 \times 10^6$
	SPA	$5,87 \times 10^5$	$5,44 \times 10^5 - 6,30 \times 10^5$
	CzD Gluc	$9,93 \times 10^6$	$8,84 \times 10^6 - 1,10 \times 10^7$
	CzD Glyc	$1,43 \times 10^7$	$1,23 \times 10^7 - 1,64 \times 10^7$
	HFA	$7,17 \times 10^6$	$6,49 \times 10^6 - 7,85 \times 10^6$
	Riba Gluc	$1,42 \times 10^7$	$1,14 \times 10^7 - 1,70 \times 10^7$
	Riba Sacch	$1,97 \times 10^7$	$1,78 \times 10^7 - 2,16 \times 10^7$
Paec.f.10	LPA	$1,87 \times 10^7$	$1,48 \times 10^7 - 2,26 \times 10^7$
	MPA	$2,28 \times 10^7$	$1,63 \times 10^7 - 2,94 \times 10^7$
	SPA	$1,32 \times 10^6$	$1,12 \times 10^7 - 1,51 \times 10^7$
	CzD Gluc	$1,49 \times 10^7$	$1,26 \times 10^7 - 1,73 \times 10^7$
	CzD Glyc	$9,65 \times 10^6$	$9,04 \times 10^6 - 1,02 \times 10^7$
	HFA	$5,22 \times 10^7$	$3,98 \times 10^7 - 6,46 \times 10^7$
	Riba Gluc	$2,31 \times 10^7$	$1,69 \times 10^7 - 2,93 \times 10^7$
	Riba Sacch	$2,56 \times 10^7$	$2,00 \times 10^7 - 3,11 \times 10^7$
Paec.f.34	LPA	$9,38 \times 10^5$	$8,84 \times 10^5 - 9,92 \times 10^5$
	MPA	$1,17 \times 10^7$	$9,99 \times 10^6 - 1,35 \times 10^7$
	SPA	$9,62 \times 10^5$	$8,91 \times 10^5 - 1,03 \times 10^6$
	CzD Gluc	$9,62 \times 10^6$	$8,90 \times 10^6 - 1,03 \times 10^7$
	CzD Glyc	$8,67 \times 10^5$	$7,62 \times 10^5 - 9,71 \times 10^5$
	HFA	$1,96 \times 10^7$	$1,39 \times 10^7 - 2,52 \times 10^7$
	Riba Gluc	$9,93 \times 10^6$	$9,28 \times 10^6 - 1,05 \times 10^7$
	Riba Sacch	$1,29 \times 10^6$	$9,99 \times 10^5 - 1,59 \times 10^6$

Die Tabelle 6 zeigt die bei der Virulenztestung von unterschiedlich ernährten Pilzstämmen gegenüber *E. kuehniella* und *P. interpunctella* erzielten Ergebnisse. Die Versuche erfolgten bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 76% und 25°C und entsprachen somit annähernd den in Lägern während einer Mottenkalamität herrschenden Bedingungen.

Die aus den kumulativen Mortalitätsraten berechneten LT_{50} - und LT_{90} - Werte geben Aufschluß auf die Virulenz unterschiedlich ernährter Pilzstämmen. Die Anzucht auf verschiedenen Nährböden führte bei sämtlichen Pilzstämmen zu veränderten Virulenzen.

Bei Berücksichtigung der Vertrauensbereiche ergeben sich zwischen den von den verschiedenen Pilzstämmen hervorgerufenen LT_{50} - und LT_{90} - Werten innerhalb der gleichen Wirtsart teilweise deutliche Unterschiede. Ein zusätzlicher Einfluß der Wirtsart konnte bei der angewendeten Versuchsmethode nicht festgestellt werden.

Gegenüber der Mehlmotte ist M.a.73 am virulentesten. 90% der mit M.a.73 behandelten Mehlmotten starben nach 5,6 Tagen, wenn der Erreger auf SPA kultiviert wurde. Erfolgte die Behandlung der Insekten hingegen mit Sporen von M.a.73, welche von MPA gewonnen wurden, lebten 90% der so behandelten Insekten noch 9,6 Tage und damit signifikant länger als mit Paec.f.34 und Paec.f.10 infizierte Tiere. Die LT_{90} der Mehlmottenimagines betrug nach einer Behandlung mit Paec.f.34 7,5 Tage und nach Behandlung mit Paec.f.10 8,1 Tage, wenn die Pilze auf Riba Gluc bzw. CzD Gluc kultiviert wurden

Für M.a.110 kann gegenüber *P. interpunctella* wiederum die höchste Virulenz belegt werden. Zieht man die Vertrauensbereiche in Betracht, sind die LT_{90} - Werte bei Kultivierung auf Hfa, MPA und Riba Gluc signifikant kleiner als bei alle anderen Pilzstämmen, welche gegenüber *P. interpunctella* getestet wurden. Bei Anzucht von M.a.110 auf den übrigen Nährböden ist die Virulenz im Vergleich zu den anderen Pilzstämmen mindestens auf gleichem statistischen Niveau.

Zur Gewinnung von Erregermaterial wurden die Pilzstämmen für die weiteren Untersuchungen auf folgenden Nährböden kultiviert: M.a.110 auf Hfa, B.ba 56 auf Hfa und Paec.f.10 auf CzD Gluc.

Tab. 6 : Einfluß der Nährbodenzusammensetzung auf die Virulenz entomopathogener Pilze gegenüber *E. kuehniella* und *P. interpunctella*

Wirtsinsekt	Pilzstamm	Nährboden	LT ₅₀ (Tage)	Vertrauens- bereich (Tage)	LT ₉₀ (Tage)	Vertrauens- bereich (Tage)
<i>P.interpunctella</i>	B. ba.56	Hfa	4,1 cdef	3,7 - 4,5	6,1 def	5,7 - 6,6
		Riba suc	4,5 defg	4,1 - 4,9	6,5 efg	6,1 - 7,0
		Riba gluc	4,6 efg	4,2 - 5,0	6,6 efg	6,2 - 7,1
		CzD gluc	4,8 fgh	4,4 - 5,2	6,8 fg	6,4 - 7,3
		MPA	5,1 gh	4,7 - 5,4	7,1 gh	6,7 - 7,5
		CzD glyc	5,2 gh	4,8 - 5,5	7,2 gh	6,8 - 7,6
		LPA	5,2 gh	4,8 - 5,6	7,3 gh	6,9 - 7,7
	M.a.110	Hfa	3,1 a	2,8 - 3,3	4,7 a	4,5 - 5,0
		MPA	3,4 ab	3,1 - 3,6	5,1 ab	4,9 - 5,3
		Riba gluc	3,6 bc	3,4 - 3,8	5,3 bc	5,1 - 5,6
		CzD gluc	4,0 cd	3,8 - 4,2	5,7 cd	5,5 - 6,0
		SPA	4,0 cde	3,8 - 4,2	5,8 cd	5,5 - 6,0
		LPA	4,0 cde	3,8 - 4,2	5,8 cd	5,5 - 6,0
		Riba suc	4,3 def	4,1 - 4,6	6,1 de	5,8 - 6,3
		CzD glyc	4,3 def	4,1 - 4,6	6,1 de	5,8 - 6,3
	Paec.f.10	CzD gluc	4,1 cdef	3,8 - 4,4	6,3 ef	6,0 - 6,7
		Hfa	4,8 fgh	4,5 - 5,2	7,1 gh	6,8 - 7,4
		LPA	5,0 ghi	4,7 - 5,3	7,2 gh	6,9 - 7,6
		CzD glyc	5,4 hi	5,1 - 5,7	7,6 hgi	7,3 - 8,0
		MPA	5,6 ik	5,2 - 5,8	7,8 hgik	7,5 - 8,1
		Riba gluc	6,0 k	5,7 - 6,3	8,6 ik	7,9 - 8,6
		Riba suc	6,1 k	5,8 - 6,4	8,7 k	8,1 - 8,7
<i>E.kuehniella</i>	M.a.73	SPA	2,6 a	2,3 - 3,0	5,6 a	5,2 - 6,0
		Riba gluc	4,2 b	3,9 - 4,5	7,1 b	6,8 - 7,5
		Hfa	5,6 efg	5,3 - 5,9	8,8 d	8,3 - 8,9
		CzD gluc	6,2 hi	5,9 - 6,5	9,2 e	8,9 - 9,5
		MPA	6,6 ikl	6,4 - 6,9	9,6 ef	9,3 - 9,8
	Paec.f.34	Riba gluc	5,1 cd	4,8 - 5,3	7,5 bc	7,2 - 7,9
		CzD gluc	5,2 de	4,9 - 5,5	7,7 bc	7,4 - 8,1
		Hfa	5,6 def	5,3 - 5,8	8,0 cd	7,7 - 8,4
		MPA	7,1 l	6,9 - 7,4	9,7 efg	9,5 - 10,1
	Paec.f.10	CzD gluc	4,6 bc	4,2 - 4,9	8,1 cd	7,7 - 8,5
		Hfa	5,9 fgh	5,6 - 6,3	9,4 efg	9,0 - 9,9
		LPA	6,2 ghi	5,9 - 6,6	9,8 efg	9,4 - 10,2
		CzD glyc	6,5 hik	6,2 - 6,9	10,0 fg	9,6 - 10,5
		MPA	6,7 ikl	6,2 - 7,0	10,1 fg	9,6 - 10,5
		Riba gluc	6,8 ikl	6,3 - 7,1	10,1 fg	9,8 - 10,7
		Riba suc	7,0 kl	6,6 - 7,2	10,2 g	10,0 - 10,8

(Signifikante Differenzen zwischen Werten mit verschiedenen Indizes)

5.3 Einfluß der Inokulumdichte auf die Wirksamkeit der Pilze

Die sich aus den ermittelten Letalwerten ergebenden LT_{90} der Pilzstämmen sind in Abbildung 12 in Abhängigkeit von der verwendeten Sporenkonzentration der Tauchsuspension dargestellt. Im Anhang Abbildung A-1 befinden sich die dazu gehörenden LT_{50} .

Bei sämtlichen Stämmen war mit höherem Sporentiter des Inokulums ein rascheres Absterben der Testinsekten zu verzeichnen.

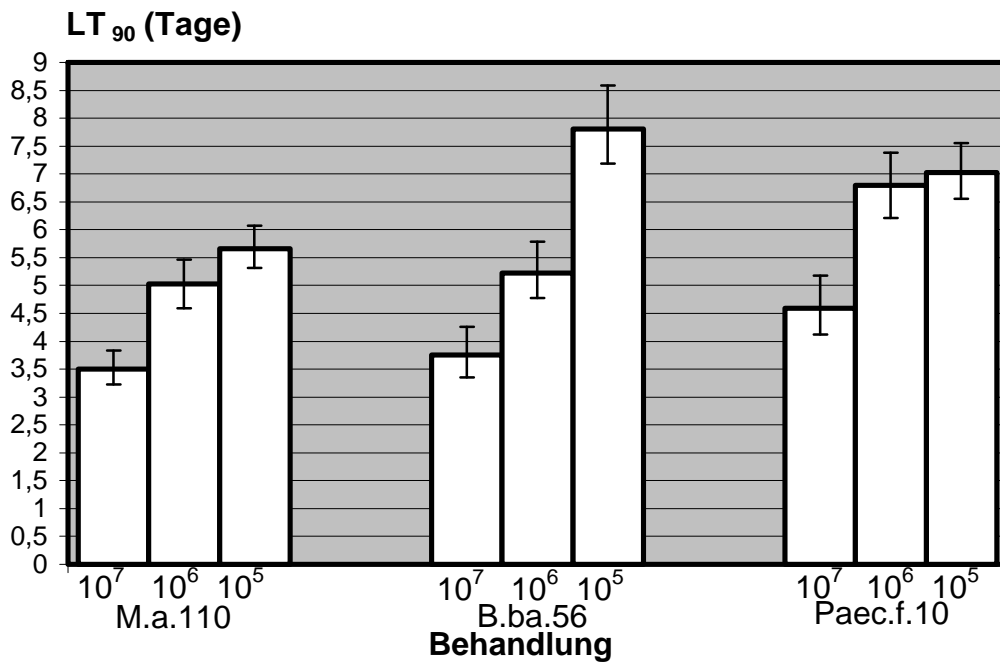


Abb.12: Pilzstamm bedingte LT_{90} -Werte bei Dörrobstmottenimagines in Abhängigkeit von der verwendeten Sporenkonzentration der Tauchsuspension

Bei Berücksichtigung der Vertrauensbereiche zeigten die für die 10^7 und 10^6 Sp. / ml Tauchsuspension ermittelten LT_{90} von M.a.110 und B.ba.56 keine signifikanten Unterschiede. Die LT_{90} von Paec.f.10 sind im Vergleich zu den beiden anderen Pilzstämmen auf sämtlichen Konzentrationsstufen signifikant höher. Die höhere Virulenz von M.a.110 gegenüber B.ba.56 ist nur für die 10^5 Sp / ml Suspension signifikant.

Abbildung 13 stellt die nachweislich durch die Erreger verursachten Mortalitätsraten der Versuchstiere unter Berücksichtigung der verwendeten Sporenkonzentration der Tauchsuspension dar.

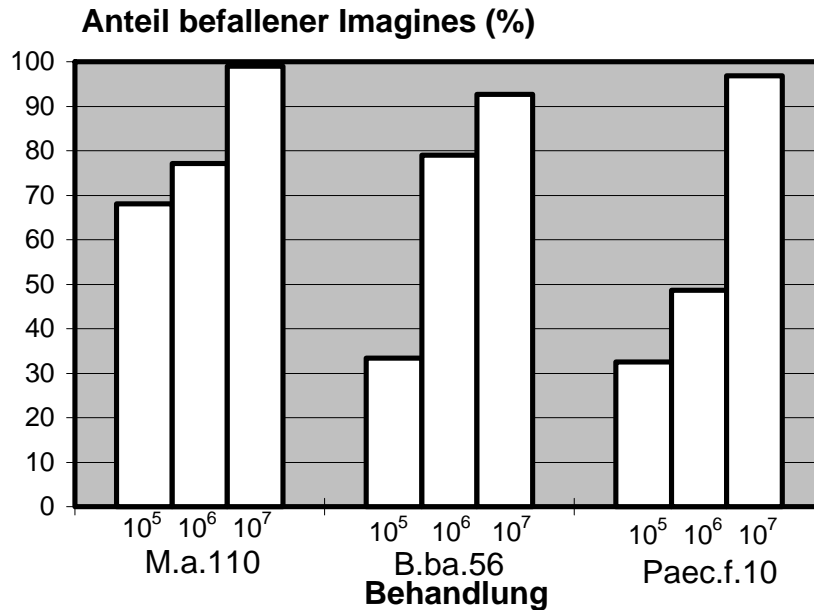


Abb.13: Einfluß der Sporenkonzentration auf die Wirksamkeit verschiedener Pilzstämmen gegenüber Imagines von *P. interpunctella*

Tab. 7: Vergleich der Wirksamkeit unterschiedlich dosierter Pilzstämmen gegenüber Imagines von *P. interpunctella* (Chi² - Test / 2x2 Kontingenztafelanalyse, $\alpha = 0,5$)

Behandlung	Dosierung	M.a.110			B.ba.56			Paec.f.10		
		10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷
M.a.110	10 ⁵ (67,7%)	-		+	+	-	-	+	-	-
	10 ⁶ (77,1%)		-	+	-		-	-	+	-
	10 ⁷ (99,0%)	+	+	-	-	-		-	-	
B.ba.56	10 ⁵ (33,3%)	+	-	-	-	+	+		-	-
	10 ⁶ (79,2%)	-		-	+	-		-	+	-
	10 ⁷ (92,7%)	-	-		+		-			
Paec.f.10	10 ⁵ (32,3%)	+	-	-		-	-	-	+	+
	10 ⁶ (49,0%)	-	+	-	-	+	-	+	-	+
	10 ⁷ (96,9%)	-	-		-	-		+	+	-

(+ signifikante Differenzen beim paarweisen Vergleich; - ohne Vergleich)

Die mit Hilfe der Kontingenztafelanalyse durchgeführten Vergleiche ergaben, daß bei M.a.110 die Steigerung der Sporenkonzentration von 10⁶ auf 10⁷ zu signifikant erhöhten Mortalitätsraten führte (Chi²-Test in Tabelle 7). Der Anteil befallener Imagines befand sich hingegen bei den 10⁵ und 10⁶ Varianten auf gleichem statistischem Niveau. Für B.ba.56 konnte ermittelt werden, daß die Erhöhung der Sporenkonzentration von 10⁵ auf 10⁶ zu signifikant erhöhten Mortalitätsraten führte, die Erhöhung von 10⁶ auf 10⁷ jedoch nicht. Statistisch gesicherte Steigerungen der Mortalitätsraten wurden für Paec.f.10 mit jeder Konzentrationserhöhung nachgewiesen.

5.4 Wirksamkeit entomopathogener Pilze auf die Eier von *P. interpunctella*

Im Ergebnis der Untersuchungen konnten signifikante Wirkungen sämtlicher Prüffaktoren auf die Absterberaten der behandelten Dörrobstmotten-Eier ermittelt werden. Die vorliegenden Untersuchungen lassen bei allen getesteten Pilzstämmen von der Temperatur abhängige Infektionsraten der Eier erkennen. Auf den getesteten Konzentrationsstufen geht für sämtliche Pilzstämmen die Erhöhung der Temperatur von 20°C auf 25°C mit einer erhöhten Wirksamkeit einher. Der Anstieg des Anteils infizierter Eier bei erhöhter Temperatur ist bei B.ba.56 und Paec.f.10 erheblich stärker als bei M.a.110 (Abbildung 14-16).

Die Abbildungen verdeutlichen, daß mit B.ba.56 und M.a.110 bessere Bekämpfungseffekte erzielt wurden als mit Paec.f.10, wobei mit B.ba.56 behandelte Dörrobstmotten-Eier bereits bei der 2×10^6 Sp. / cm² Variante zu 70 - 80% abstarben, wenn die Inokulationstemperatur 25°C beträgt. Bei der Behandlung mit M.a.110 traten ähnliche Bekämpfungseffekte erst bei höher bemessenen Dosierungen von annähernd 2×10^7 Sp. / cm² auf.

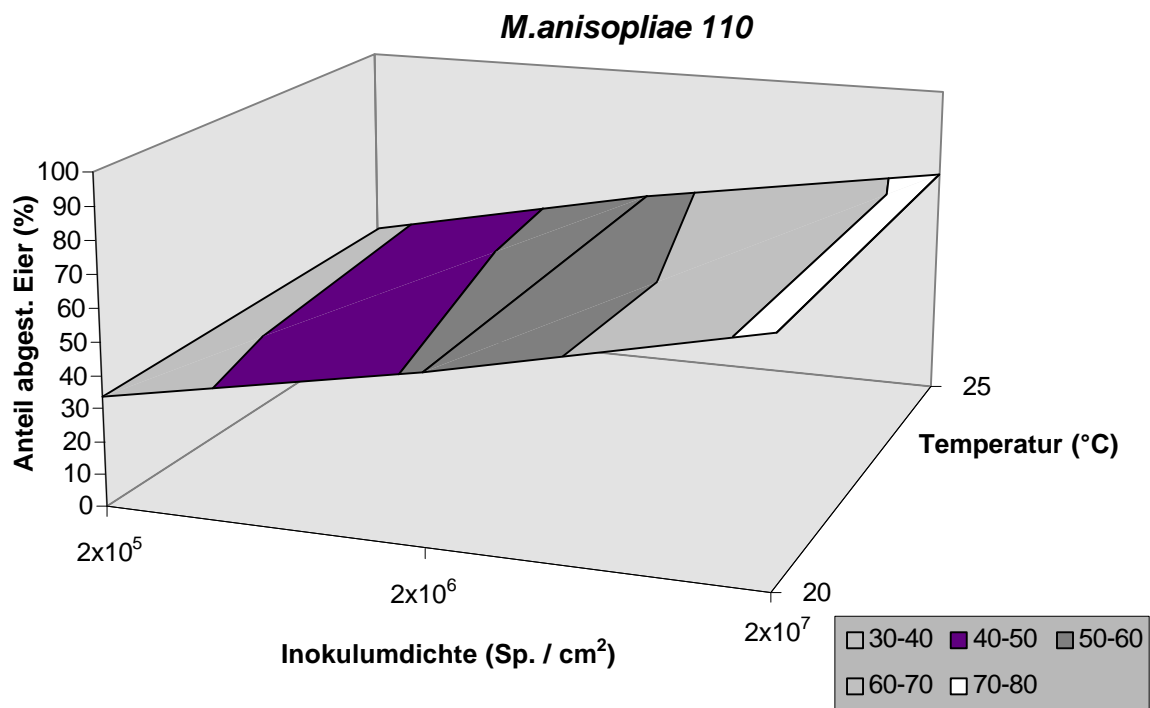


Abb. 14: Einfluß einer Behandlung der Eier von *P. interpunctella* mit *M. anisopliae* 110 in Abhängigkeit von der Inokulumdichte und der Temperatur

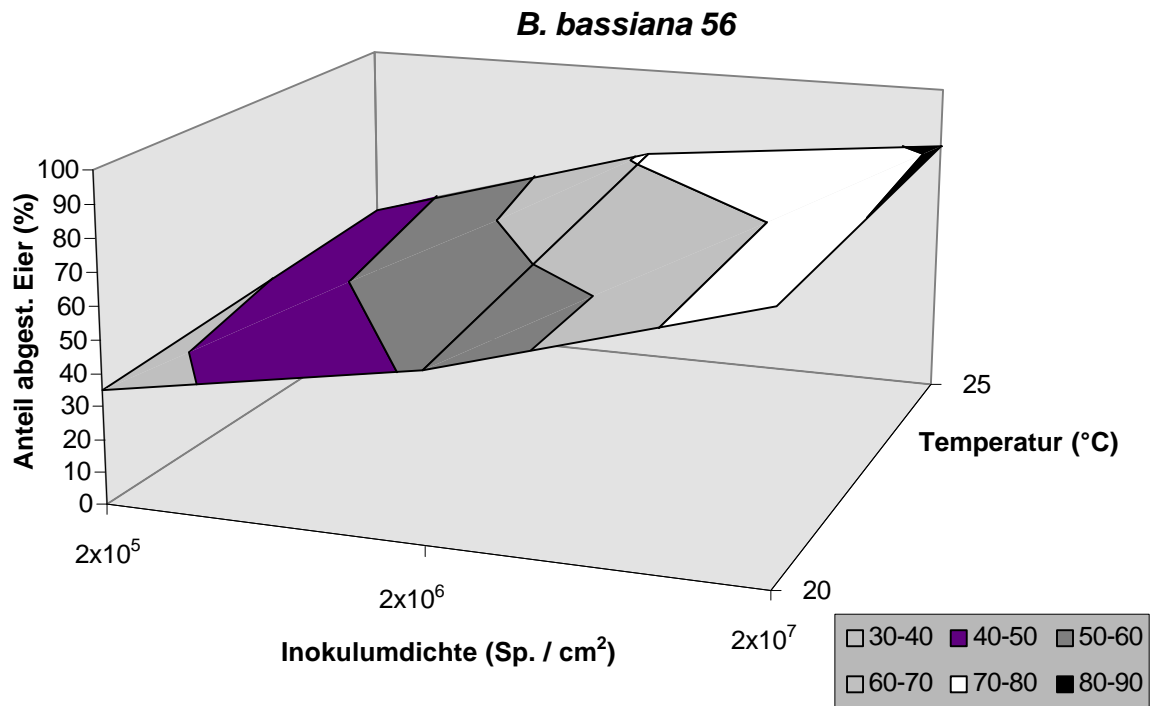


Abb. 15: Einfluß einer Behandlung der Eier von *P. interpunctella* mit *B. bassiana* 56 in Abhängigkeit von der Inokulumdichte und der Temperatur

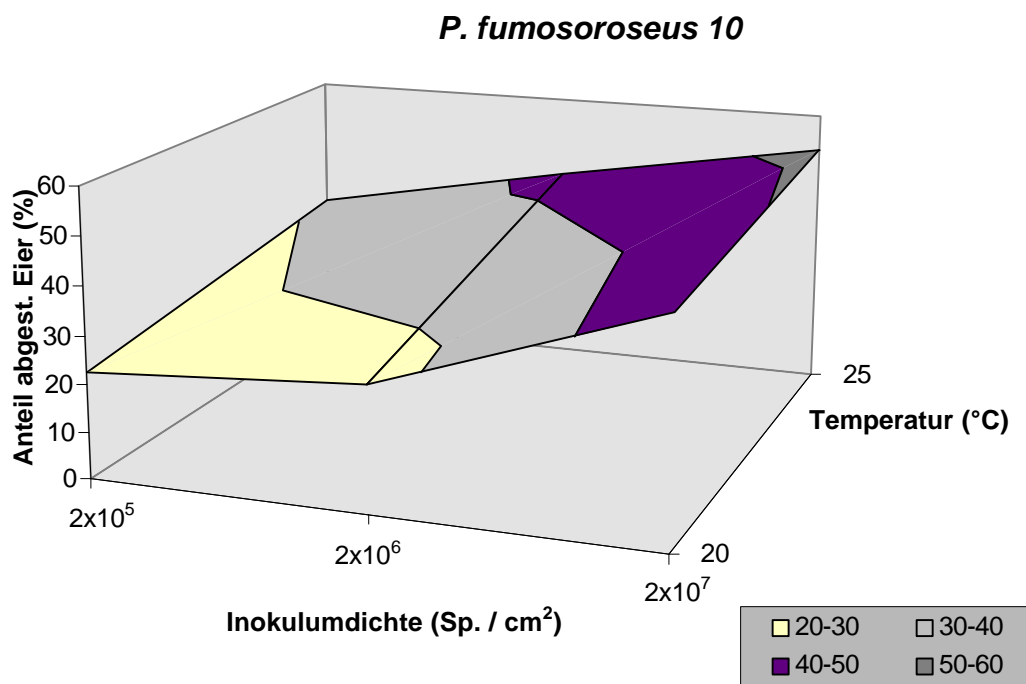


Abb. 16: Einfluß einer Behandlung der Eier von *P. interpunctella* mit *P. fumosoroseus* 10 in Abhängigkeit von der Inokulumdichte und der Temperatur

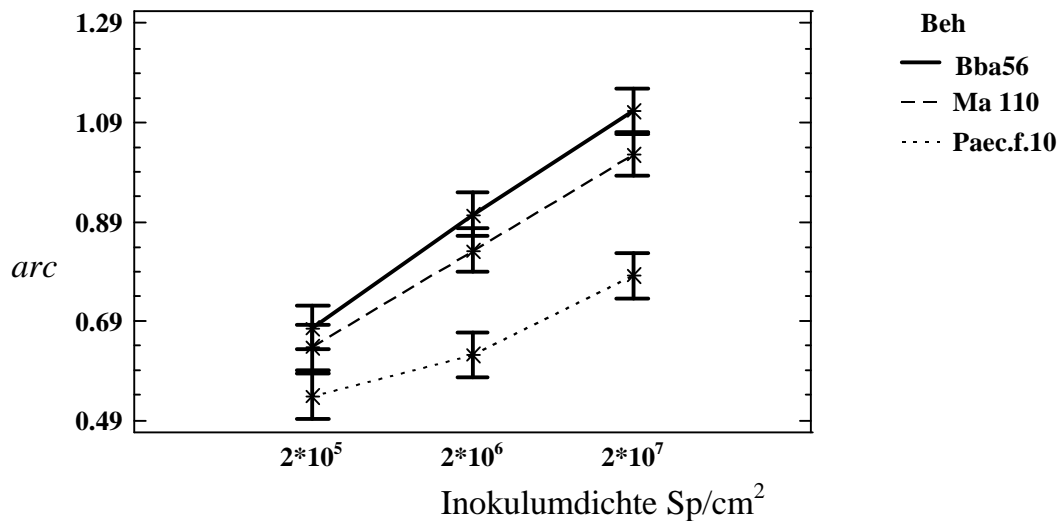


Abb. 17. Wechselwirkungen zwischen Pilzbehandlung und Inokulumdichte

Die Auswertung der dreifaktoriellen Varianzanalyse ergab außerdem signifikante Wechselwirkungen zwischen den Konzentrationen und den drei Pilzbehandlungen. Der Vergleich der Versuchsergebnisse mußte infolgedessen auf der Basis der Nebeneffekte beruhen. In Abbildung 17 sind anhand der mittels arcus-Transformation verrechneten Daten sowohl die Signifikanzen als auch die Wechselwirkungen ersichtlich. Bei B.ba.56 und M.a.110 führte jede Konzentrationserhöhung zu einer signifikanten Wirkungssteigerung. Für Paec.f.10 kann erst mit dem am höchsten konzentrierten Sporentiter ein signifikanter Anstieg im Anteil abgestorbener Dörrobstmotten-Eier festgestellt werden. Auf sämtlichen Konzentrationsstufen waren B.ba.56 und M.a.110 auf signifikant höherem Niveau als Paec.f.10.

5.5 Altersbedingte Sensitivität der Larvenstadien von *P. interpunctella* gegenüber virulenten Pilzstämmen

Die erzielten Untersuchungsergebnisse zur Sensitivität unterschiedlicher Larvenstadien der Dörrobstmotte gegenüber insektenpathogenen Pilzen sind in Abbildung 18 dargestellt.

Die auf der Basis der Mortalitätswerte berechneten Wirkungsgrade widerspiegeln eine prinzipielle Anfälligkeit sämtlicher Larvenstadien gegenüber den eingesetzten Pilzstämmen.

Bei allen Pilzstämmen traten jedoch quantitative Unterschiede zwischen den einzelnen Larvenstadien deutlich hervor.

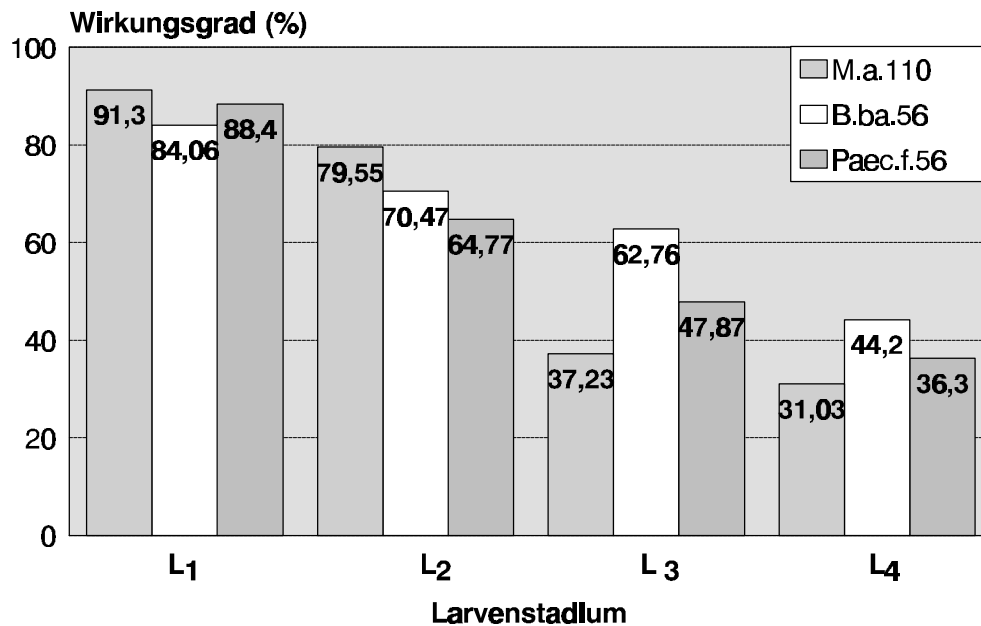


Abb. 18: Wirkungsgrad insektenpathogener Pilze gegenüber Larven von *P. interpunctella* bei künstlicher Inokulation von 10^7 Sporen / ml (berechnet nach SCHNEIDER-ORELLI)

Eine besonders hohe Anfälligkeit wiesen die frisch geschlüpften Eilarven auf. Die Unterschiede zwischen den Pilzstämmen waren für die L₁ sehr gering. So lagen die aus der Abbildung 18 nicht ersichtlichen Verpilzungsraten in allen Behandlungsvarianten sieben Tage nach der Inokulation über 85% (M.a.110: 93,8%; B.ba56: 88,5%; Paec.f.10: 91,7%).

Die aus den Mortalitätsraten ermittelten Wirkungsgrade verdeutlichen klar eine mit fortschreitender Larvenentwicklung einher gehende Abnahme der Anfälligkeit gegenüber den drei Pilzstämmen. Gegenüber den ersten beiden Larvenstadien war M.a.110 am wirksamsten. Der Abfall der Anfälligkeit beim dritten und vierten Larvenstadium ist gegenüber allen Erregern augenscheinlich, tritt jedoch besonders deutlich gegenüber M.a.110 in Erscheinung und lässt auf eine zunehmende Resistenz bei steigendem Alter schließen.

Die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse erfolgte mittels angenähertem 95%-Vertrauensbereich. In der Tabelle 8 können die Wirkungsgrade gegenüber den verschiedenen Larvenstadien bei gleicher Pilzbehandlung sowie gegenüber dem gleichem Larvenstadium bei unterschiedlicher Behandlung verglichen werden.

Zieht man die angenäherten 95%-Vertrauensbereiche in Betracht, ergeben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Wirkungsgraden gegenüber L₃ und L₄ bei M.a.110

und Paec.f.10. Die Anfälligkeit der Larven gegenüber einer Infektion mit B.ba.56 nahm hingegen mit Übergang vom L₃ zu L₄ weiter signifikant ab.

Tab. 8: Vergleich der Sensitivität verschieden alter Dörrobstmottenlarven gegenüber entomopathogenen Pilzen (angenäherter 95%-Vertrauensbereich, $\alpha=5\%$)

Pilzstamm	Stadium	M.a.110				B.ba.56				Paec.f.10			
		L ₁	L ₂	L ₃	L ₄	L ₁	L ₂	L ₃	L ₄	L ₁	L ₂	L ₃	L ₄
M.a.110	L ₁	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	L ₂	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
	L ₃	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	L ₄	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B.ba.56	L ₁	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
	L ₂	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
	L ₃	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-
	L ₄	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
Paec.f.10	L ₁	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	L ₂	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
	L ₃	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
	L ₄	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-

(+ signifikante Differenzen beim paarweisen Vergleich; - ohne Vergleich)

Die Tabelle 8 zeigt außerdem, daß signifikante Unterschiede zwischen den Pilzstämmen nur gegenüber L₂ und L₃ auftraten. Die L₂ waren am anfälligsten gegenüber M.a.110. Bei Betrachtung der Wirkungsgrade gegenüber L₃ kann für B.ba.56 die höchste Virulenz belegt werden.

5.6 Einfluß der Sporenformulierung auf die Wirksamkeit der Pilze

5.6.1 Einfluß auf die Infektiosität der Pilze

Die Wirksamkeit unterschiedlich formulierter Konidienpräparate gegenüber frisch geschlüpften Imagines von *P. interpunctella* läßt sich aus den Tabellen 9 und 10 sowie der Abbildung 19 entnehmen.

Die drei getesteten Formulierung erbrachten für die verwendeten Pilzstämmen unterschiedliche Wirkungen gegenüber Dörrobstmottenimagines. Grundsätzlich geht für die beiden Erre-

gerstämme aus den erhaltenen Werten eine Wirkungssteigerung für Laktose formulierte Konidien hervor, die jedoch nur teilweise statistisch nachweisbar ist.

Tab.9: Vergleich der Wirksamkeit unterschiedlich formulierter M.a.110-Konidien hinsichtlich der von ihnen verursachten Mortalitätsraten bei frisch geschlüpften Imagines von *P. interpunctella* in Abhängigkeit von der Sporendosierung (Chi²-Test / 2 x 2 Kontingenztafelanalyse, $\alpha = 0,05$)

Behandlung		Wasser - Tween				Telmion				Laktose			
	Dosierung 2x	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
Wasser - Tween	10 ³ (18,8%)*	-	+	+	+		-	-	-		-	-	-
	10 ⁴ (35,4%)	+	-		+	-		-	-	-		-	-
	10 ⁵ (57,3%)	+		-	+	-	-		-	-	-	+	-
	10 ⁶ (72,9%)	+	+	+	-	-	-	-		-	-	-	
Telmion	10 ³ (21,9%)		-	-	-	-		+	+		-	-	-
	10 ⁴ (34,4%)	-		-	-		-	+	+	-	+	-	-
	10 ⁵ (62,5%)	-	-		-	+	+		+	-	-		-
	10 ⁶ (79,2%)	-	-	-		+	+	+	-	-	-	-	
Laktose	10 ³ (29,2%)		-	-	-		-	-	-	-	+	+	+
	10 ⁴ (57,3%)	-		-	-	-	+	-	-	+	-	+	+
	10 ⁵ (77,1%)	-	-	+	-	-	-		-	+	+	-	
	10 ⁶ (88,4%)	-	-	-		-	-	-		+	+		-

(* Mortalitätsraten; + signifikante Differenzen beim paarweisen Vergleich; - ohne Vergleich)

Tab. 10: Vergleich der Wirksamkeit unterschiedlich formulierter B.ba.56 Konidien hinsichtlich der von ihnen verursachten Mortalitätsraten bei frisch geschlüpften Imagines von *P. interpunctella* in Abhängigkeit von der Sporendosierung (Chi²-Test / 2 x 2 Kontingenztafelanalyse, $\alpha = 0,05$)

Behandlung		Wasser - Tween				Telmion				Laktose			
	Dosierung 2x	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
Wasser - Tween	10 ³ (10,4%)*	-	+	+	+		-	-	-	+	-	-	-
	10 ⁴ (26,0%)	+	-	+	+	-		-	-	-	+	-	-
	10 ⁵ (51,0%)	+	+	-	+	-	-		-	-	-	+	-
	10 ⁶ (76,0%)	+	+	+	-	-	-	-		-	-	-	
Telmion	10 ³ (18,8%)		-	-	-	-	+	+	+		-	-	-
	10 ⁴ (32,3%)	-		-	-	+	-	+	+	-	+	-	-
	10 ⁵ (61,5%)	-	-		-	+	+	-		-	-		-
	10 ⁶ (76,0%)	-	-	-		+	+		-	-	-	-	
Laktose	10 ³ (26,0%)	+	-	-	-		-	-	-	-	+	+	+
	10 ⁴ (57,0%)	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+
	10 ⁵ (70,8%)	-	-	+	-	-	-		-	+	+	-	
	10 ⁶ (86,5%)	-	-	-		-	-	-		+	+		-

(* Mortalitätsraten; + signifikante Differenzen beim paarweisen Vergleich; - ohne Vergleich)

Die Wirksamkeit der in Telmion und Wasser formulierten Konidien befanden sich für beide Pilzstämme stets auf statistisch gleichem Niveau. Die in den Tabelle 9 und 10 zusammengefaßten Mortalitätsraten zeigen, daß nach indirekter Inokulation erst mit den am höchsten konzentrierten Sporenformulierungen bei frisch geschlüpften Imagines höhere Mortalitätsraten erzielt werden. Lediglich die in Laktose formulierten Konidien von M.a.110 erbrachten bereits auf der 2×10^5 Sp. / cm² Variante zufriedenstellende Behandlungsergebnisse.

Die aus den kumulativen Mortalitätsraten berechnete LT₅₀- und LT₉₀- Werte der 2×10^6 Sp. / cm² Varianten finden sich in Abbildung 19.

Bei gleicher Tendenz der verwendeten Formulierungen wies M.a.110 für sämtliche Versuchsvarianten gegenüber frisch geschlüpften Imagines die höchste Wirksamkeit auf.

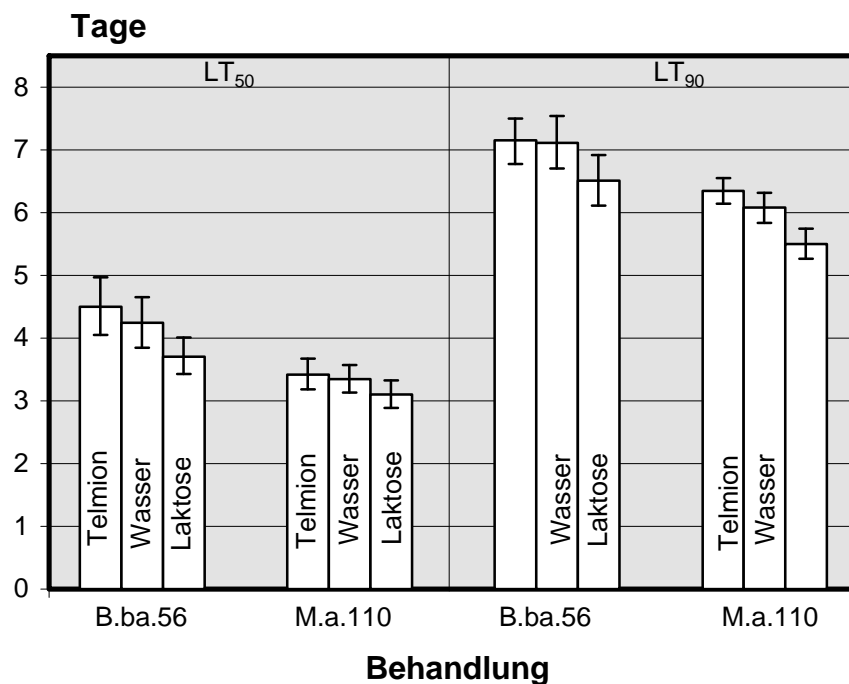


Abb. 19: LT₅₀- und LT₉₀-Werte unterschiedlich formulierter Pilzstämme gegenüber Dörrobstmottenimagines nach indirekter Inokulation von 2×10^6 Sp / cm²

Die Abbildungen 20 und 21 zeigen das Mortalitätsgeschehen der L₁ nach Behandlung mit unterschiedlich formulierten Konidienpräparaten der beiden Erregerstämme in Abhängigkeit von der Applikationsdosis. Die dazu gehörenden Chi² - Tests finden sich im Anhang Tabellen A-1 bis A-4.

Grundsätzlich geht für beide Pilzstämme aus den erhaltenen Werten bei steigender Sporendosierung eine von der Formulierung abhängige Wirksamkeit gegenüber den Testlarven hervor.

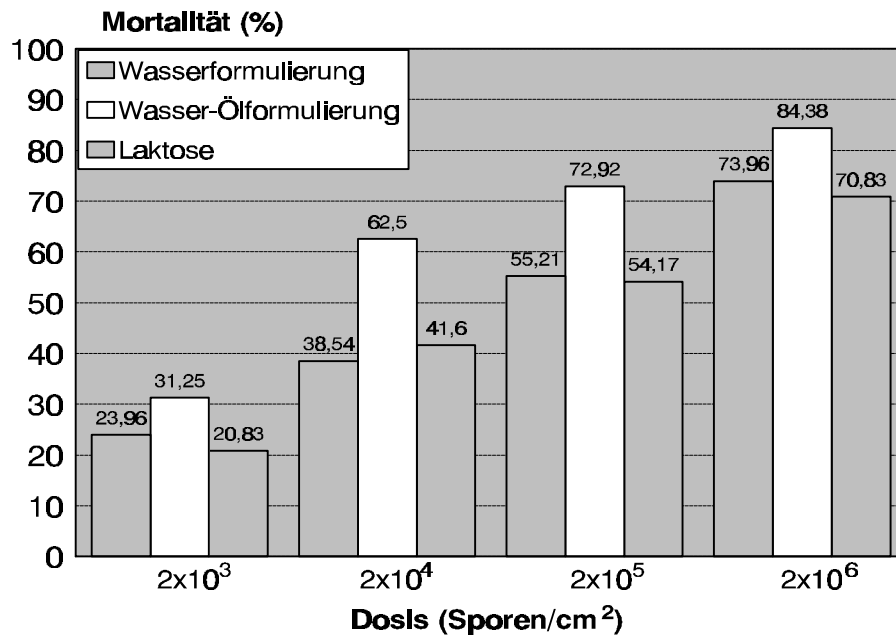


Abb. 20: Einfluß der Formulierung auf die Wirksamkeit von *B. bassiana* 56 gegenüber L₁ der Dörrobstmotte in Abhängigkeit von der Sporendosierung

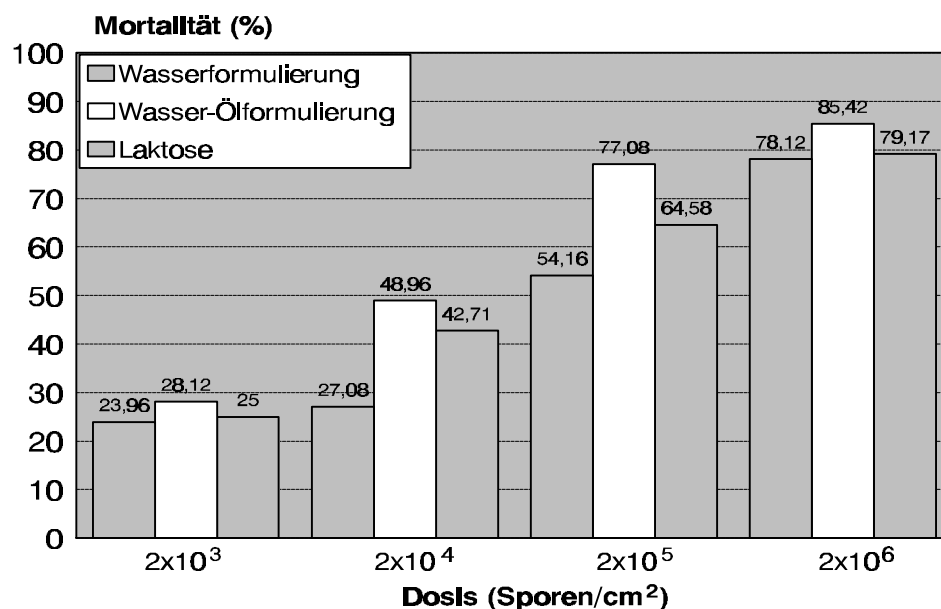


Abb. 21: Einfluß der Formulierung auf die Wirksamkeit von *M. anisopliae* 110 gegenüber L₁ der Dörrobstmotte in Abhängigkeit von der Sporendosierung

Die Telmion-Formulierung (Wasser-Öl) war bei sämtlichen Versuchsvarianten am wirkungsvollsten.

Mit B.ba.56 behandelte L_1 zeigten konzentrationsabhängig nachweisbare Unterschiede der Mortalitätsraten bei Anwendung verschiedener Sporenformulierungen. Bei statistischer Betrachtung der Versuchsergebnisse wurden insgesamt mit der Wasser-Ölformulierung von der 2×10^4 Sp / cm² Dosierung an statistisch bessere Ergebnisse erzielt. Die Wasser- und die Laktose- Formulierung befanden sich stets auf statistisch gleichem Niveau.

Die Mortalitätsraten der mit unterschiedlichen Konidienformulierungen des als virulenter eingestuften M.a.110 behandelten L_1 waren lediglich bei den 2×10^4 und 2×10^5 Sp. / cm² Varianten auf statistisch unterschiedlichem Niveau. Bei diesen Dosierungen erzielten die Wasser-Öl- und die Laktose- Formulierung statistisch bessere Ergebnisse.

Allgemein konnte gegenüber L_1 von der 2×10^5 Sp. / cm² Dosierung an bei den verwendeten Pilzstämmen eine ausreichende Wirksamkeit erreicht werden, wenn die Konidien als Wasser-Ölformulierung angewendet wurden.

Die Abbildungen 22 und 23 stellen die durch unterschiedlich formulierte Pilzkonidien verursachten Mortalitätsraten bei L_5 -Larven unter Berücksichtigung der jeweiligen Applikationsdosis dar.

Die höchste Wirksamkeit kann wiederum für die Telmion-Varianten belegt werden. Für die weniger anfälligen L_5 wurden jedoch erst mit der am höchsten bemessenen Sporendosierung (2×10^6 Sp. / cm²) höhere Mortalitätsraten von über 75% erzielt.

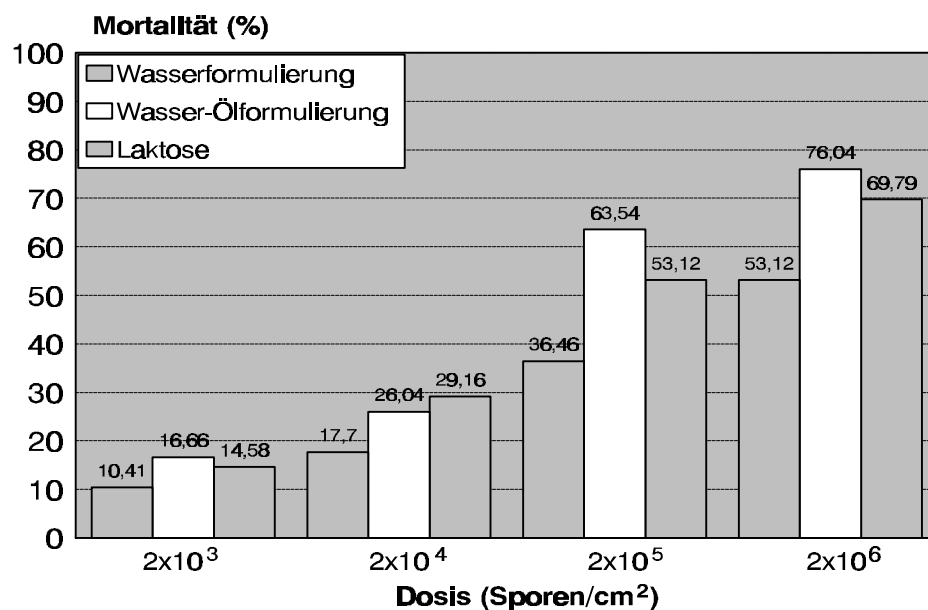


Abb. 22: Einfluß der Formulierung auf die Wirksamkeit von *B. bassiana* 56 gegenüber L_5 der Dörrobstmotte in Abhängigkeit von der Sporendosierung

Ein Vergleich der beiden verwendeten Pilzstämme und der getesteten Formulierungen zeigt, daß die Unterschiede im Mortalitätsgeschehen der L₅ vorwiegend durch die Formulierungen bestimmt werden.

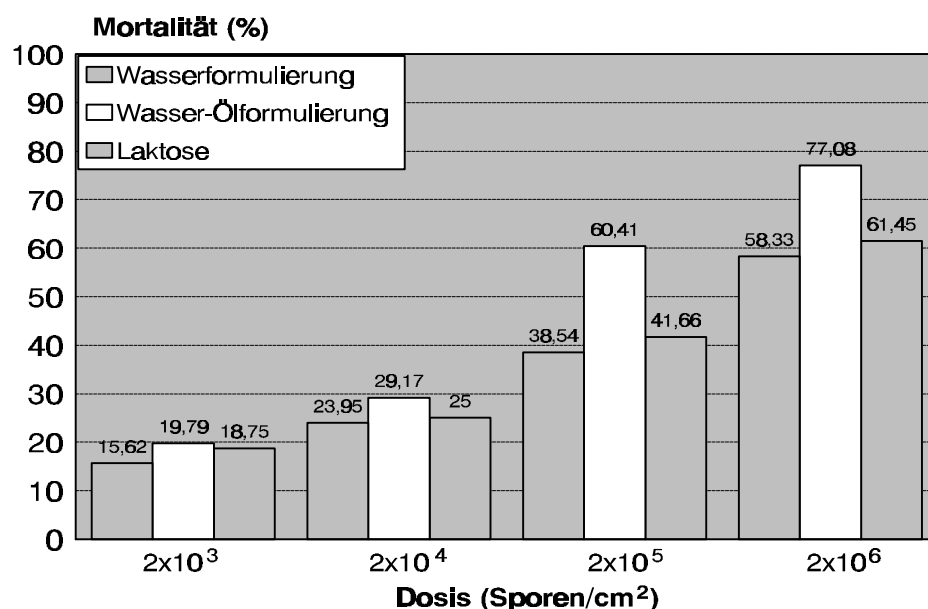


Abb. 23: Einfluß der Formulierung auf die Wirksamkeit von *M. anisopliae* 110 gegenüber L₅ der Dörrobstmotte in Abhängigkeit von der Sporendosierung

Aus den kumulativen Mortalitätsraten berechnete LD₅₀, und LD₉₀ sind in Tabelle 11 aufgelistet.

Tab. 11: Einfluß der Formulierung auf die Wirksamkeit insektenpathogener Pilze gegenüber L₅-Larven von *P. interpunctella* in Abhängigkeit von der relativen Luftfeuchtigkeit

Pilz	Luftfeuchtigkeit (%)	Formulierung	LD ₅₀ (Sp./Larve)	Vertrauensbereich (Sp./Larve)	LD ₉₀ (Sp./Larve)	Vertrauensbereich (Sp./Larve)
B.ba.56	76	Wasser	2,1x10 ⁴	1,5x10 ⁴ -2,9x10 ⁴	1,1x10 ⁶	7,3x10 ⁵ -1,8x10 ⁶
		Telmion	3,5x10 ³	2,5x10 ³ -5,0x10 ³	1,9x10 ⁵	1,3x10 ⁵ -3,1x10 ⁵
	96	Wasser	3,5x10 ³	2,4x10 ³ -4,9x10 ³	2,0x10 ⁵	1,3x10 ⁵ -3,2x10 ⁵
		Telmion	1,3x10 ³	9,0x10 ² -1,8x10 ³	7,4x10 ⁴	4,8x10 ⁴ -1,2x10 ⁵
M.a.110	76	Wasser	1,0x10 ⁴	7,2x10 ³ -1,4x10 ⁴	5,8x10 ⁵	3,7x10 ⁵ -9,7x10 ⁵
		Telmion	2,2x10 ³	1,5x10 ³ -3,1x10 ³	1,3x10 ⁵	8,4x10 ⁴ -2,1x10 ⁵
	96	Wasser	2,7x10 ³	1,9x10 ³ -3,9x10 ³	1,8x10 ⁵	1,1x10 ⁵ -3,2x10 ⁵
		Telmion	7,4x10 ²	4,9x10 ² -1,1x10 ³	5,0x10 ⁴	3,1x10 ⁴ -8,4x10 ⁴

Die von der Sporenformulierung ausgehende Wirkung auf die Infektiosität der Erregerstämme ist auch nach direkter Applikation nachweisbar. Bei statistischer Betrachtung der LD₅₀ und LD₉₀ unter Berücksichtigung der Vertrauensbereiche werden mit Telmion formulierte Konidien beider Pilzstämme signifikant bessere Ergebnisse erzielt. Die Mortalitätskurven in Abhängigkeit von den Log-Dosis-Werten der einzelnen Versuchsvarianten finden sich in den Abbildungen 24 bis 27.

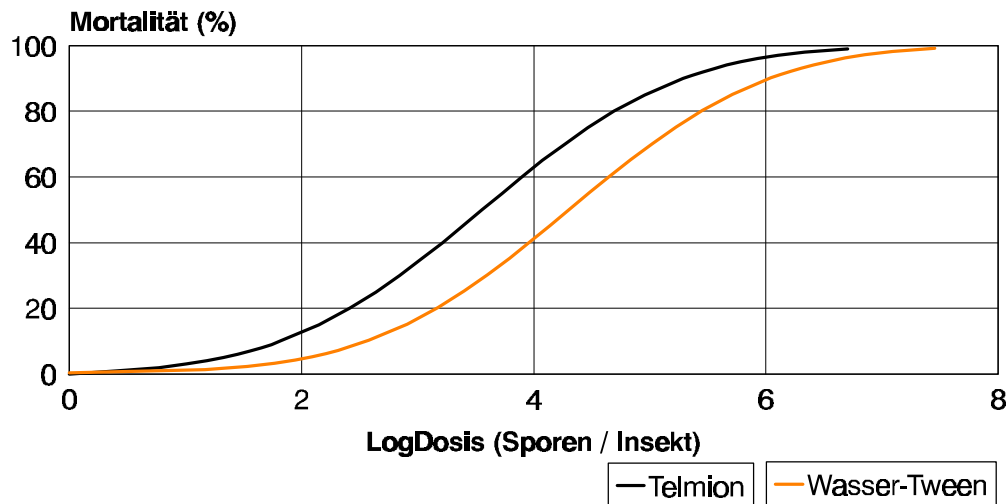


Abb. 24: Einfluß der Sporendosierung auf die Mortalität der L₅-Larven von *P. interpunctella* nach direkter Applikation unterschiedlich formulierter *B. bassiana* 56 Konidien bei 76% relative Luftfeuchtigkeit

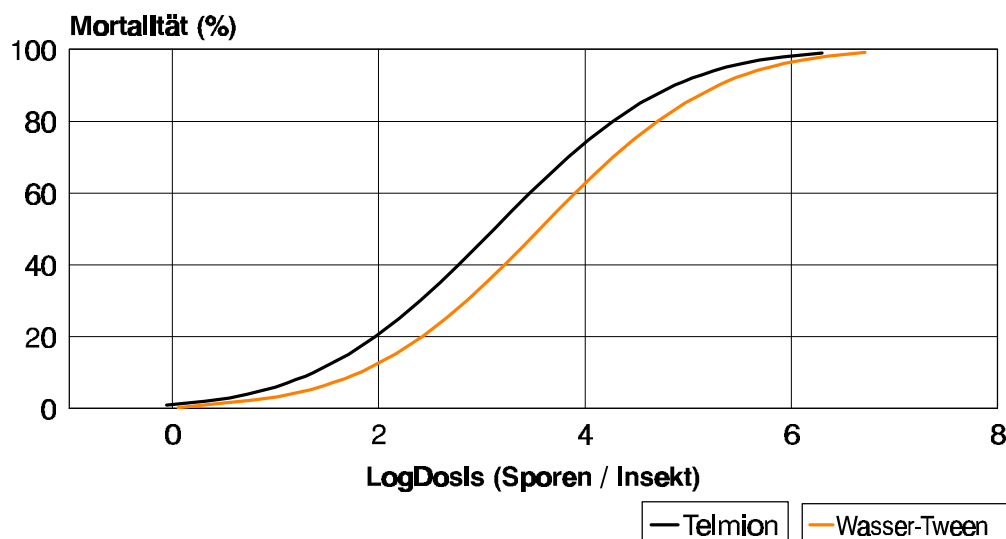


Abb. 25: Einfluß der Sporendosierung auf die Mortalität der L₅-Larven von *P. interpunctella* nach direkter Applikation unterschiedlich formulierter *B. bassiana* 56 Konidien bei 96% relative Luftfeuchtigkeit

Die LD₅₀, LD₉₀ sowie die Dosis abhängigen Mortalitätskurven weisen auf unter ungünstigen Umweltbedingungen sich vergrößernde Differenzen zwischen den beiden Formulierungen hin.

Ein Vergleich der Mediane der Dosis bei gleicher zu erwartender Mortalität erbrachte für B.ba.56, daß man bei 76% r.F. nur 17% der Applikationsdosis der Wasserformulierung benötigt, um mit der Ölsuspension die gleiche Wirkung zu erzielen. Bei 96% Luftfeuchtigkeit sind hingegen 37% erforderlich.

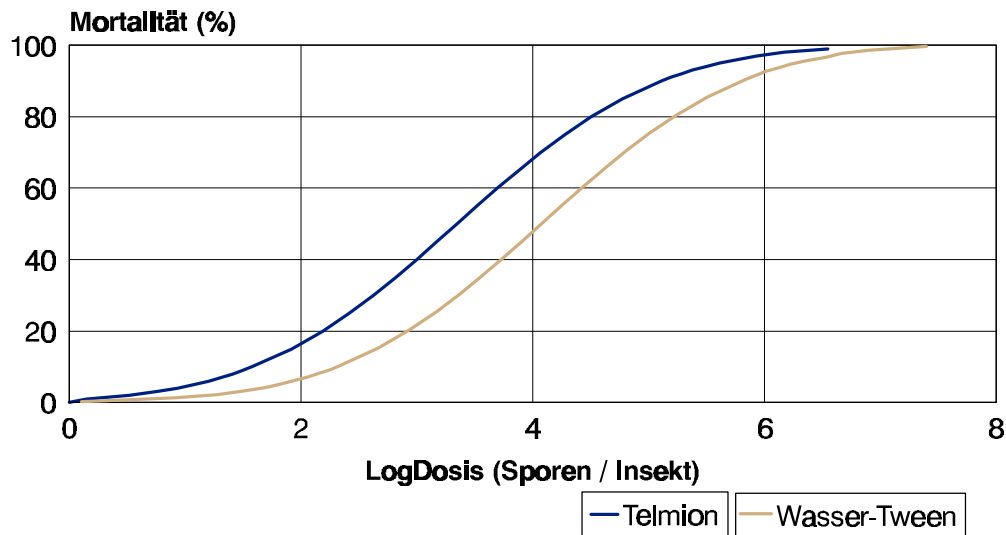


Abb. 26: Einfluß der Sporendosierung auf die Mortalität der L₅-Larven von *P. interpunctella* nach direkter Applikation unterschiedlich formulierter *M. anisopliae* 110 Konidien bei 76% relativer Luftfeuchtigkeit

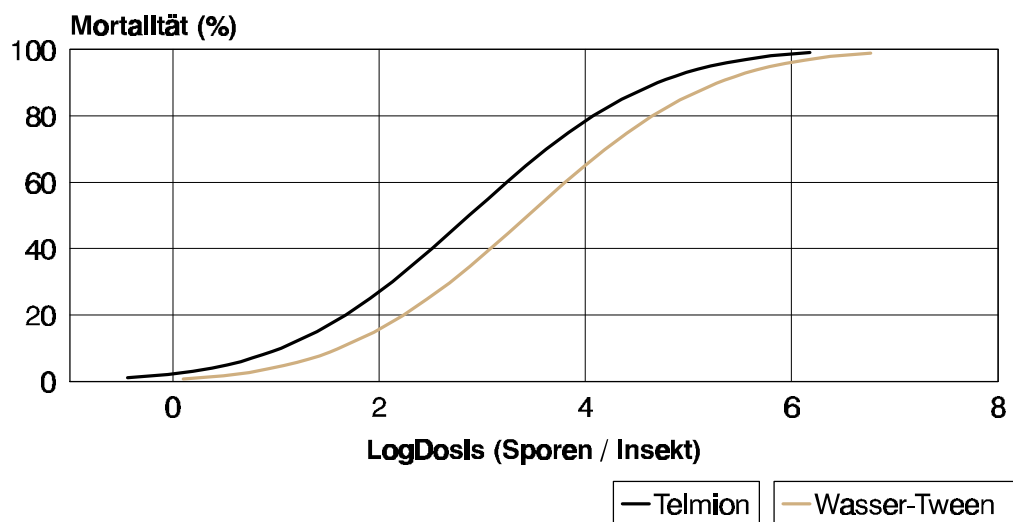


Abb. 27: Einfluß der Sporendosierung auf die Mortalität der L₅-Larven von *P. interpunctella* nach direkter Applikation unterschiedlich formulierter *M. anisopliae* 110 Konidien bei 96% relativer Luftfeuchtigkeit

Der Einfluß der Luftfeuchtigkeit ist bei dem als virulenter betrachteten Erreger M.a.110 weniger deutlich. Um gleiche Mortalitätsraten zu erzielen, beträgt die dafür notwendige Dosierung

in Telmion formulierter Sporen bei 76% Luftfeuchtigkeit 22% und bei 96% Luftfeuchtigkeit 27% der Sporendosierung bei Wasserformulierung.

5.6.2 Einfluß auf die Lagerfähigkeit und Persistenz der Konidien von *B. bassiana* 56 und *M. anisopliae* 110

Beim Einsatz wirksamer Mykoinsektizide müssen die biologischen und physikalischen Eigenschaften der Formulierungen über einen längeren Zeitraum beständig bleiben. So ist bereits die Erhaltung einer hohen Keimfähigkeit der Sporen im Verlauf der Lagerung der Präparate von Bedeutung, da die Applikation von Sporen mit verminderter oder verlorengegangener Keimfähigkeit schnell zu Unterdosierungen führen kann. Andererseits hat eine sinkende Keimfähigkeit im Laufe der Zeit eine eingeschränkte Wirkung auf einen Neubefall von Schaderregern zur Folge.

Lagerfähigkeit

In der Tabelle 12 sind für M.a.110 die Ergebnisse des Sporenlagerungsversuches aufgelistet.

Die Lagerfähigkeit der Konidien ist am geringsten in der Wasser-Tweenformulierung ausgebildet. Für die 26°C und 16°C Varianten können bereits nach vier Monaten erhebliche Einbußen an Keimfähigkeit verzeichnet werden. Zum totalen Verlust kommt es nach sieben bzw. elf Monaten Lagerzeit. Die verminderte Lagerfähigkeit der Sporen von *M. anisopliae* 110 in Wassersuspension bei 26°C und 16°C wird auch durch die einsetzende Keimung von Sporen während der Lagerung bedingt.

Die geringsten Einbußen an Keimfähigkeit sind bei der Lagerung unformulierter Konidien bei einer Temperatur von 26°C zu verzeichnen. Bei 4°C sind die Sporen jedoch weniger lagerfähig. Für die als Wasser-Ölsuspension formulierten Sporen kann im Verlauf der Lagerung bei 4°C und 16°C ein langsamerer Abfall der Lebensfähigkeit festgestellt werden.

Tab. 12: Keimprozent der Konidien von *M. anisopliae* 110 in Abhängigkeit von der Formulierung und der Lagerzeit

Formulierung	Temperatur (°C)	Lagerperiode in Monaten											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
reine Konidien	4	89	85	80	75	62	56	47	43	42	38	30	24
	16	95	92	85	82	81	79	70	70	68	66	62	60
	26	88	86	84	80	81	80	75	72	73	70	66	62
Laktose	4	92	86	84	79	78	72	70	68	66	59	57	54
	16	82	80	80	77	75	72	66	63	61	56	50	45
	26	95	91	87	85	75	70	66	65	62	55	54	52
Wasser	4	90	82	75	70	56	47	43	40	37	32	28	24
	16	81	72	66	51	37	29	25	20	18	5	0	0
	26	78	70	56	40	28	11	0	0	0	0	0	0
Wasser-Öl	4	87	84	82	79	78	76	74	71	69	67	62	59
	16	85	80	78	76	73	70	72	70	69	63	60	54
	26	87	78	75	72	71	64	60	58	58	52	47	40

In der Tabelle 13 finden sich die Ergebnisse der Keimungsuntersuchungen unterschiedlich gelagerter Sporenformulierungen von *B. bassiana* 56.

Tab. 13: Keimprozent der Konidien von *B. bassiana* 56 in Abhängigkeit von der Formulierung und der Lagerzeit

Formulierung	Temperatur (°C)	Lagerperiode in Monaten											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
reine Konidien	4	94	93	90	87	84	80	75	70	68	59	54	52
	16	90	88	86	82	79	74	72	68	55	50	44	36
	26	86	80	75	71	62	55	47	41	33	28	22	19
Laktose	4	92	90	87	85	81	77	74	71	68	66	65	62
	16	93	91	88	84	83	75	72	70	66	62	55	51
	26	85	78	75	71	67	64	62	51	44	40	36	33
Wasser	4	90	87	85	82	77	74	71	69	66	63	58	55
	16	87	84	81	77	73	69	63	61	52	49	45	40
	26	84	78	74	69	63	55	42	35	27	19	12	0
Wasser-Öl	4	96	91	87	85	84	81	79	72	69	66	62	57
	16	91	88	85	83	80	77	74	70	70	66	61	58
	26	94	87	84	81	77	74	73	68	66	60	58	51

Zur Vermeidung von größeren Keimungsverlusten sollten Konidien von B.ba.56 als Laktose-Konidienstaub formuliert und bei 4°C aufbewahrt werden. Die Lagerung des Laktose-Konidienstaubes bei 16°C oder 26°C führte hingegen nach neun bzw. elf Monaten zu größeren Einbußen in der Keimfähigkeit der Sporen.

Ein annähernd temperaturunabhängiges Keimungsverhalten konnte bei den Sporen, welche als Wasser-Ölsuspension formuliert waren, beobachtet werden.

Auch für B.ba.56 gilt, daß die Aufbewahrung der als Wassersuspension formulierten Sporen bei 26°C den schnellsten Rückgang der Keimfähigkeit zur Folge hat.

Persistenz

In der Abbildung 28 ist das Persistenzverhalten unterschiedlich formulierter Konidien von *M. anisopliae* 110 in Abhängigkeit von der Zeit dargestellt.

Die direkt im Anschluß an die Formulierung durchgeführten Untersuchungen belegten keine erheblichen Differenzen im Keimungsverhalten zwischen den verschiedenen Varianten.

Im Vergleich zu unformulierten Sporen zeigten die Wasser-Ölsuspension und der Laktose-Konidienstaub eine erhöhte Persistenz. So waren nach zehn Monaten noch mehr als 50% der Sporen keimfähig. Hingegen keimten reine Konidien nach zehn Monaten nur zu 24%.

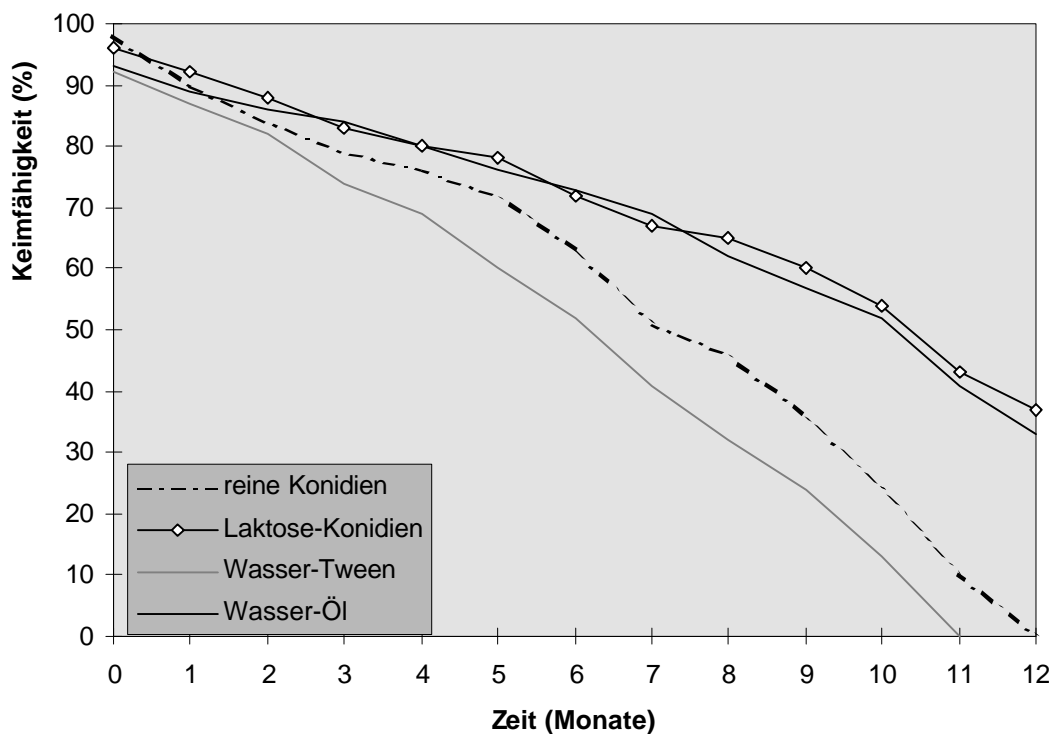


Abb. 28: Einfluß der Formulierung auf die Persistenz der Konidien von *Metarhizium anisopliae* 110 in Abhängigkeit von der Zeit

Eine die Persistenz der Konidien schädigende Wirkung wurde bei der Wasser-Tween-Suspension festgestellt. Ein Vergleich zu unformulierten Konidien belegt, daß es bei 25°C und einer

relativen Luftfeuchtigkeit von 76% bereits nach drei Monaten zu bedeutenden Keimungsverlusten kommt. Nach zehn Monaten betrug der Anteil keimungsfähiger Sporen nur noch 13%.

Die Untersuchungsergebnisse zur Persistenz unterschiedlich formulierter Konidien von *B. bassiana* 56 sind in der Abbildung 29 dargestellt.

Die in Wasser suspendierten Konidien besitzen wiederum die geringste Persistenz und widerspiegeln somit auch die Ergebnisse zur Lagerfähigkeit aus Tabelle 13. Nach zehn Monaten kam es zum vollständigen Verlust der Keimfähigkeit.

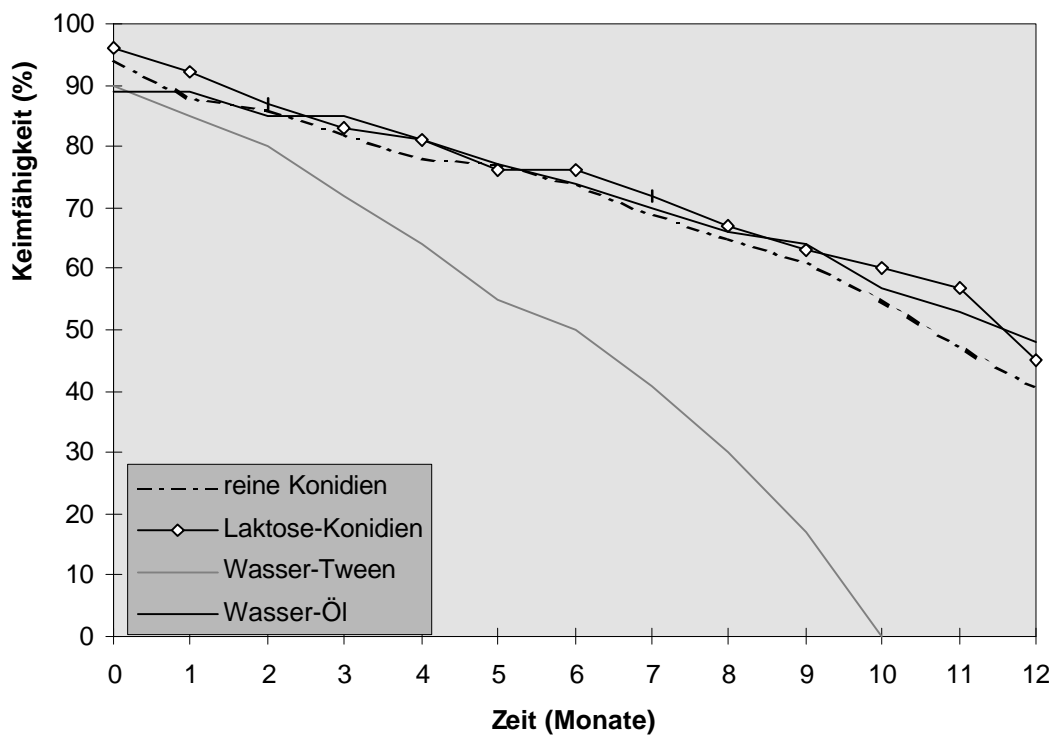


Abb. 29: Einfluß der Formulierung auf die Persistenz der Konidien von *Beauveria bassiana* 56 in Abhängigkeit von der Zeit

Einen geringen Einfluß auf die Persistenz der Sporen kann für die Wasser-Ölsuspension und den Laktose-Konidienstaub belegt werden. Ein Vergleich zu unbehandelten Konidien von *B.ba.56* zeigt hier kaum Unterschiede in der Persistenz der Sporen. Zehn Monate nach Beginn des Versuches keimten noch 55% der unbehandelten Sporen.

Unter den gewählten Versuchsbedingungen besitzen somit die Konidien von B.ba.56 in allen Varianten, mit Ausnahme der Wasser-Tween Formulierung, eine größere Beständigkeit als Konidien von M.a.110.

5.7 Einsatzerprobungen von *B. bassiana* 56, *M. anisopliae* 110 und *P. fumosoroseus* 10 gegen *P. interpunctella*

5.7.1 Wirkung der Pilze auf die Fekundität, Eier und schlüpfende Eilarven von *P. interpunctella*

Durch die im Modellversuch gewählte Verfahrensweise war es möglich, Informationen über die Wirkung von Pilzbehandlungen bei sich zumindest zeitweise außerhalb des Lagergutes aufhaltenden Entwicklungsstadien zu gewinnen. Die Analyse einer zum Zeitpunkt der Kopulation stattfindenden Pilzinokulation von Dörrobstmottenweibchen diente zur Bestätigung der Wirksamkeit bei Imagines und ließ gleichzeitig erste Rückschlüsse über praktische Anwendungsmöglichkeiten zu. Die sukzessive Bekämpfung von Weibchen, Eiern und frisch geschlüpften Larven sollte vor allem Erkenntnisse über die Möglichkeiten der Unterbrechung der Generationsfolge liefern.

Fekundität der Weibchen

In Abbildung 30 sind die Auswirkungen einer während der Kopulation von Dörrobstmotten stattfindenden Pilzapplikation auf die Anzahl gelegter Eier dargestellt.

In Abhängigkeit vom Pilzstamm setzte ein von der Kontrolle signifikant unterschiedliches Eiablagegeschehen bei behandelten Tieren ein. Für M.a.110 konnte die höchste Wirksamkeit auf die Fekundität von Dörrobstmottenweibchen verzeichnet werden, die sowohl gegenüber der unbehandelten Kontrolle als auch den beiden anderen Pilzbehandlungen auf signifikant höherem Niveau lag.

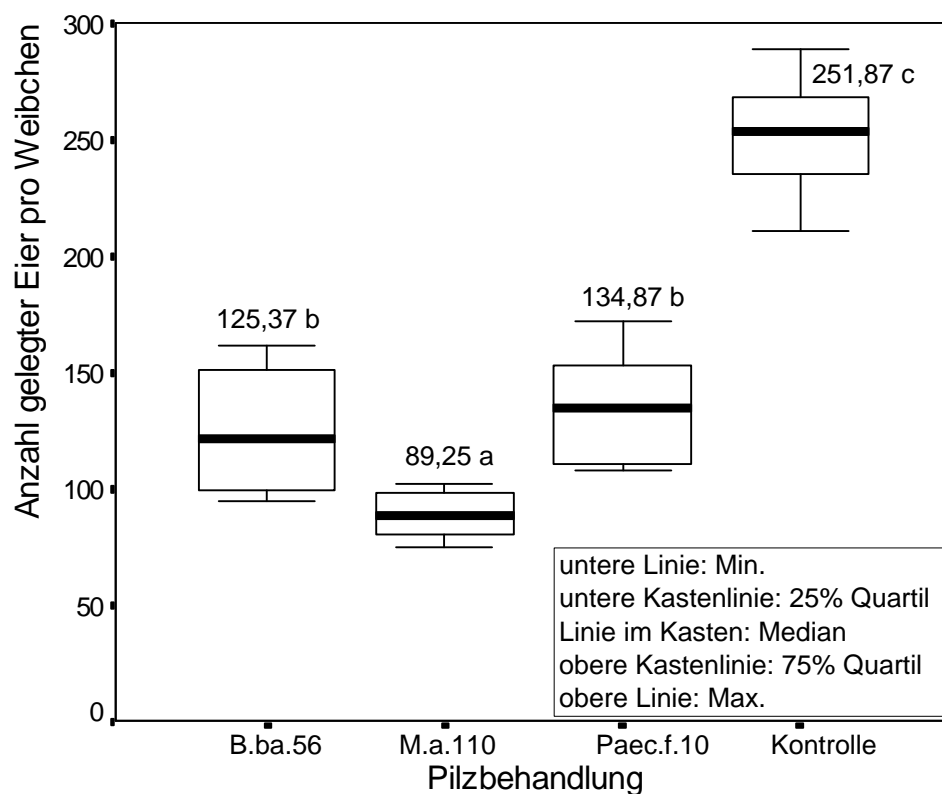


Abb. 30: Empirische Verteilung der Eiablage unterschiedlich Pilz behandelter Weibchen von *P. interpunctella* (signifikante Differenzen zwischen Mittelwerten mit verschiedenen Indizes für $\alpha = 0,5$ n = 8)

Die kumulativen Werte täglich gelegter Eier bei verschiedenen behandelten Dörrobstmotten sind aus der Abbildung 31 zu entnehmen.

Bereits einen Tag nach der Kopulation setzte die Eiablage ein. Insgesamt ergaben sich zwischen den unterschiedlich behandelten Weibchen keine wesentlichen Differenzen in der Anzahl täglich gelegter Eier. Der erhebliche Rückgang der Anzahl Eier pro Weibchen ist somit allein auf die verkürzte Lebensdauer infizierter Dörrobstmottenweibchen zurückzuführen. So betrug die Dauer der Eiablage in Abhängigkeit von der Pilzbehandlung vier bis sechs Tage. Unbehandelte Weibchen legten hingegen bis zum 15. Tag Eier.

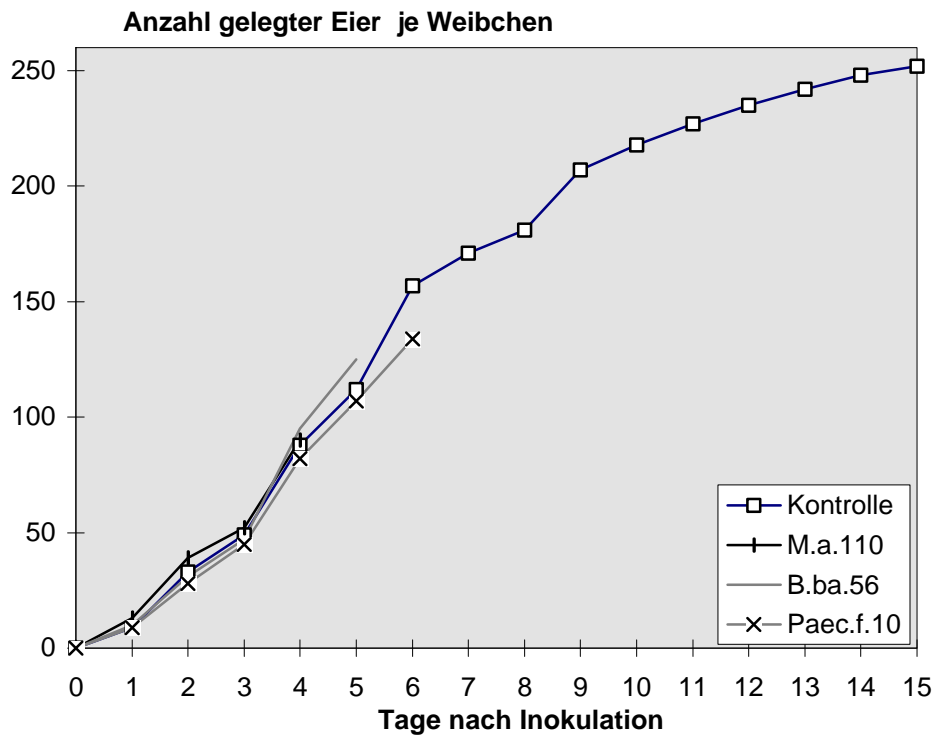


Abb. 31: Tägliche Eiablage von Dörrobstmotten in Abhängigkeit von der Pilzbehandlung (kumulative Werte)

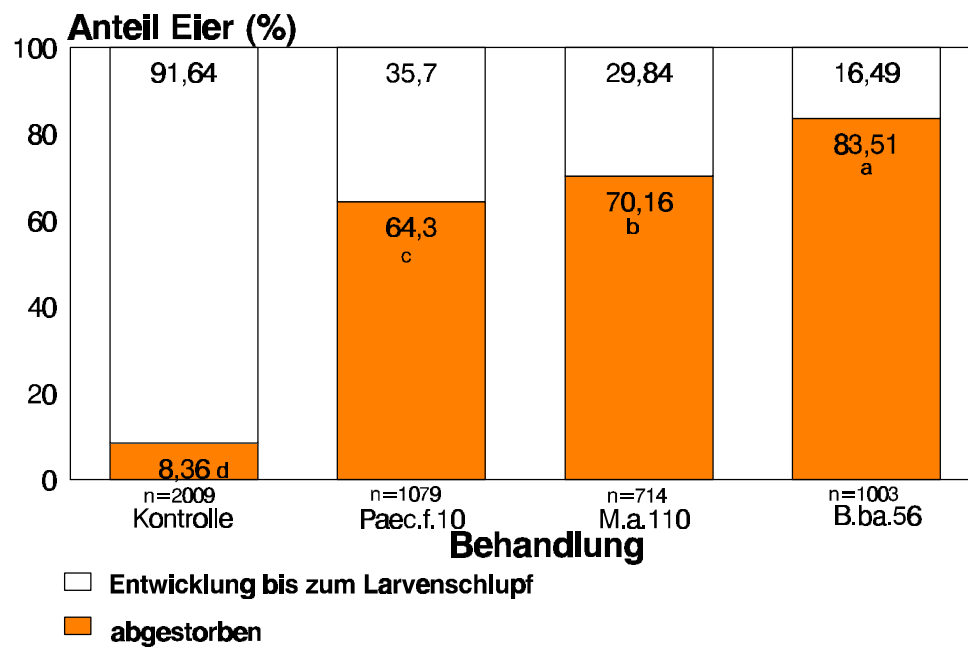


Abb. 32: Eimortalität von *P. interpunctella* nach Oviposition auf Pilz behandeltem Untergrund (signifikante Differenzen zwischen Werten mit verschiedenen Indizes)

Mortalität der Eier

Abbildung 32 veranschaulicht die Auswirkungen unterschiedlicher Pilzstämme auf die Mortalität von Dörrobstmotteneiern, welche von bereits behandelten Weibchen gelegt worden sind.

Die drei getesteten Erreger erbrachten gegenüber der unbehandelten Kontrolle eine deutliche Zunahme der Eimortalität. Die signifikant höchsten Reduzierungen der Motteneier wurden mit B.ba.56 erzielt. Die Mortalität in der Kontrolle betrug 8,4%.

Mortalität der Eilarven

Tabelle 14 zeigt den Anteil gestorbener L_1 nach Behandlung der Eier und anschließendem Schlupf auf kontaminiertem Untergrund.

Tab. 14: Auswirkung einer Pilzbehandlung auf das Überleben der Eilarven von *Plodia interpunctella*

Behandlung	durchschnittliche Anzahl geschlüpfter L_1	Anteil gestorbener L_1 (%)	durchschnittliche Anzahl überlebender L_1
M.a.110	26,6	36 a	17,0
B.ba.56	20,7	24 b	15,7
Paec.f.10	48,5	14 c	41,7
Kontrolle	230,1	4 d	220,9

(signifikante Differenzen im Anteil gestorbener L_1 zwischen Werten mit verschiedenen Indizes $\alpha=0,5$)

Die Behandlung der Dörrobstmottenweibchen zum Zeitpunkt der Kopulation mit anschließender Eiablage und Larvenschlupf auf kontaminiertem Untergrund führte zu einer erheblichen Reduzierung der Nachkommenschaft.

Bei Betrachtung der drei Behandlungsmethoden lassen sich bereits von der Infektion der Weibchen ausgehende Wirkungen auf die Stärke der F_1 nachweisen. M.a.110 hatte den größten Dezimierungseffekt und bewirkte einen Rückgang der Anzahl gelegter Eier auf etwa ein Drittel gegenüber der Kontrolle.

Die Eiablage auf kontaminiertem Untergrund erwies sich für B.ba.56 am wirkungsvollsten.

Durch die gewählte Bekämpfungsfolge wurden insgesamt die besten Resultate mit M.a.110 und B.ba.56 erzielt. Im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle betrug der Anteil überlebender L_1 der Nachfolgegeneration 7,5 bzw. 6,9%. Auf signifikant geringerem Niveau gestalteten sich die Behandlungserfolge bei Paec.f.10.

5.7.2 Wirkung der Pilze auf die Schlupfrate, Lebensdauer und Fekundität der Imagines von *P. interpunctella* nach Kontamination der Brutsubstratoberfläche

Die Ergebnisse zum Einfluß einer Behandlung der Brutsubstratoberfläche auf den Schlupftermin der Imagines von *P. interpunctella* sind in der Abbildung 33 dargestellt.

Für den Beginn des Falterschlupfes ergeben sich zwischen den Behandlungen und der Kontrolle keine wesentlichen Unterschiede.

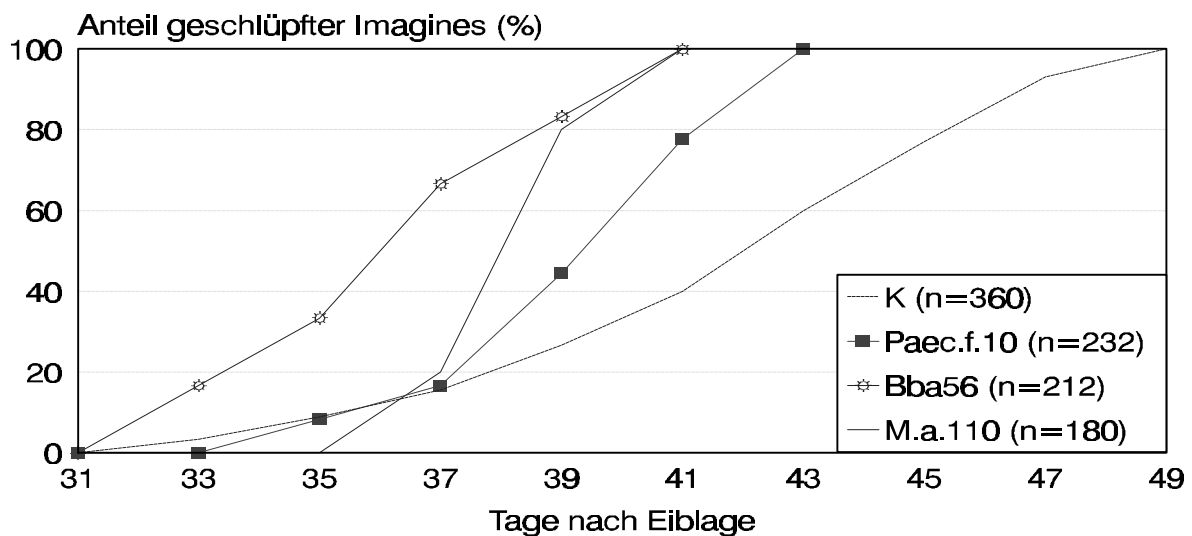


Abb. 33: Einfluß einer Oberflächenbehandlung von Brutsubstrat auf die Schlupftermine der Imagines von *P. interpunctella*

Die drei getesteten Pilzstämme erbrachten gegenüber der unbehandelten Kontrolle eine deutliche zeitliche Verkürzung der Schlupfperiode. Die in der Legende von Abbildung 33 dargestellte Anzahl geschlüpfter Imagines läßt darauf schließen, daß die Pilzbehandlung besonders die sich langsamer entwickelnden Insekten dezimiert und dadurch einen verkürzten Schlupfzeitraum hervorruft. Der Falterschlupf aus M.a.110 behandeltem Brutsubstrat vollzog sich zwischen dem 35. und 41. Tag nach der Eiablage. Unbehandelte Insekten schlüpften in einem Zeitraum von 18 Tagen zwischen dem 31. und 49. Tag. Die in Abbildung 34 gegenübergestellten Schlupfraten veranschaulichen die Wirkung der Pilzbehandlung. Zieht man die Ergebnisse des χ^2 -Tests (s. Anhang Tabelle A-5) in Betracht, so führte eine Oberflächenbehandlung des Brutsubstrates mit M.a.110 zu einer signifikant höheren präimaginalen Mortalität. Die Schlupfraten von B.ba.56 und Paec.f.10 sind auf statistisch gleichem Niveau, unterscheiden sich jedoch signifikant zur Kontrolle.

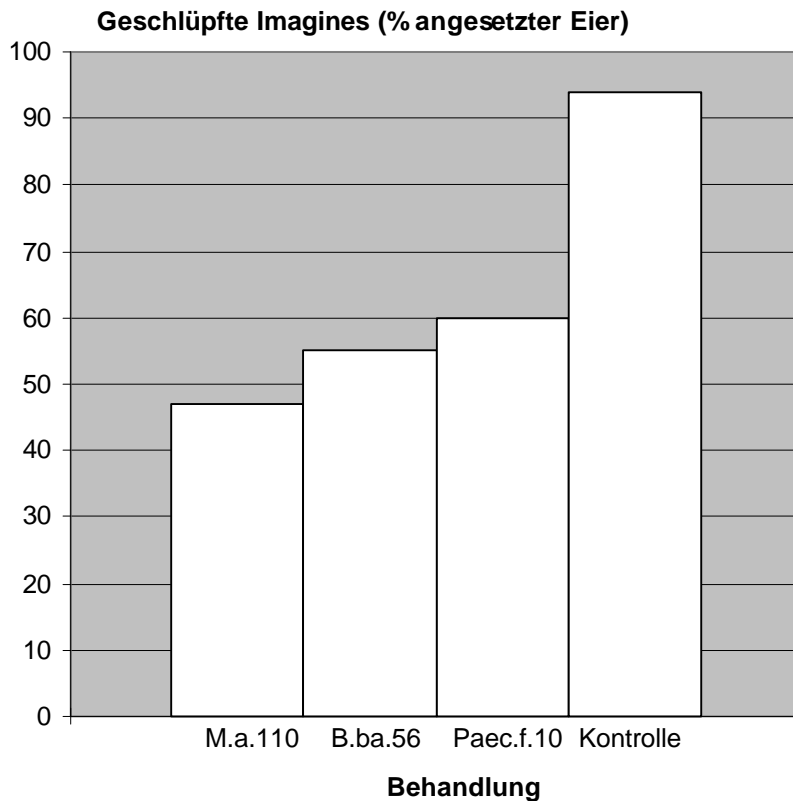


Abb. 34: Einfluß der Oberflächenbehandlung von Brutsubstrat auf die Schlupfrate der Imagines von *P. interpunctella*

Aufgrund der unterschiedlichen Wirksamkeit der Pilze waren auch bei der Lebensdauer geschlüpfter Falter Differenzen zwischen den Varianten feststellbar. Die Erhebungen zur imaginalen Entwicklung des Schädling sind in der Tabelle 15 zusammengefaßt.

Die Verpilzungsraten der geschlüpften Falter nach dem Passieren der mit Pilzsporen besprühten Substratoberfläche zeigen statistisch gesicherte Unterschiede in Abhängigkeit von der Kontaminierungsvariante (Ergebnisse des χ^2 -Tests im Anhang Tabelle A-6). M.a.110 und B.ba.56 verursachten den höchsten Anteil verpilzter Imagines und führten bei Berücksichtigung der LT_{50} -Werte sowie der dazugehörigen Vertrauensbereiche zu signifikant schnellerem Absterben der Imagines.

Tab. 15: Entwicklung der Imagines von *P. interpunctella* nach Schlupf aus Brutsubstrat mit unterschiedlicher Oberflächenbehandlung

Pilzbehandlung	Anteil verpilzter Imagines (%)	Maximale Lebensdauer (Tage)	LT_{50} (Tage)	Vertrauensbereich (Tage)
M.a.110	58,9	16	5,66	5,0 - 6,3
B.ba.56	54,7	16	5,75	5,1 - 6,4
Paec.f.10	35,0	16	7,76	7,2 - 8,4
Kontrolle	0	17	9,95	9,4 - 10,5

Die Auswirkungen der Oberflächenbehandlung auf die Fekundität schlüpfender Weibchen sind in Tabelle 16 aufgelistet.

Zieht man die Ergebnisse der Varianzanalyse in Betracht, ergeben sich zwischen den Behandlungsvarianten in der Anzahl pro Weibchen gelegter Eier signifikante Unterschiede.

Bezüglich des Einflusses einer Oberflächenbehandlung auf die Mortalität von schlüpfenden Weibchen gelegter Eier können für die verwendeten Pilzstämme gegenüber der Kontrolle keine wesentlichen Unterschiede geltend gemacht werden.

Tab. 16: Einfluß der Pilz Behandlung der Substratoberfläche auf die Fekundität schlüpfender Weibchen sowie die Eimortalität

Behandlung	Anzahl Eier je Weibchen	Standart-abweichung	95% - Vertrauensbereich	Eimortalität (%)
M.a.110	108 a	12,39	92,61 - 123,38	12
B.ba.56	142 b	15,26	123,04 - 160,95	9
Paec.f.10	162 c	9,14	150,56 - 173,34	13
Kontrolle	281 d	14,47	263,02 - 298,97	8

(signifikante Differenzen zwischen Werten mit verschiedenen Indizes, $\alpha = 0,05$; $n = 5$)

5.7.3 Wirkung der Pilze nach Beimischung zum Brutsubstrat

In der Tabelle 17 werden die Schlupfraten der Dörrobstmottenimagines sowie die dazu gehörenden Wirkungsgrade für alle applizierten Ausgangskontaminationen aufgelistet. Die statistischen Vergleiche mittels χ^2 -Test finden sich in Tabelle 18.

Die Populationsentwicklung von *P. interpunctella* wurde von den getesteten Pilzstämmen deutlich beeinflusst. In sämtlichen Behandlungsvarianten hatten sich erheblich weniger Insekten entwickelt als in der Kontrolle. Der Einsatz von M.a.110 verursachte Dezimierungseffekte, die sich bei Berücksichtigung der Ergebnisse des χ^2 -Tests von den meisten Varianten signifikant unterschieden. Lediglich die Behandlung mit B.ba.56 war bei der Verwendung von Mandelbruch (M.bruch) auf statistisch gleichem Niveau. Die Verwendung von Mandelmehl (M.mehl) erbrachte bei den Behandlungsvarianten und der Kontrolle Ergebnisse, die einen signifikant negativen Einfluß auf die Populationsentwicklung erkennen lassen.

Tab. 17: Wirkung der dem Brutsubstrat beigemischter Konidien von *M. anisopliae* 110 und *B. bassiana* 56 auf die Schlupfrate der Imagines von *P. interpunctella*

Behandlung	Brutsubstrat	Anteil geschlüpfter Imagines (% angesetzter Eier)	Wirkungsgrad
M.a.110	Mandelbruch	29	67
	Mandelmehl	11	84
B.ba.56	Mandelbruch	35	60
	Mandelmehl	17	75
Kontrolle	Mandelbruch	88	-
	Mandelmehl	69	-

Tab. 18: Vergleich entomopathogener Pilzstämmen hinsichtlich ihrer Wirkung auf die präimaginale Entwicklung von *P. interpunctella* nach Beimischung zum Brutsubstrat (Chi²-Test / 2 x 2 Kontingenztafelanalyse, für $\alpha = 0,05$)

Behandlung	Brutsubstrat	M.a.110		B.ba.56		Kontrolle	
		M.bruch	M.mehl	M.bruch	M.mehl	M.bruch	M.mehl
M.a.110	Mandelbruch	-	+	-	-	+	-
	Mandelmehl	+	-	-	+	-	+
B.ba.56	Mandelbruch		-	-	+	+	-
	Mandelmehl						
Kontrolle	Mandelbruch	+	-	+	-	-	+
	Mandelmehl	-	+	-	+	+	-

(+ signifikante Differenzen beim paarweisen Vergleich; - ohne Vergleich)

Die unter Berücksichtigung der Sterblichkeit der unbehandelten Kontrolltiere berechneten Wirkungsgrade belegen bei den verwendeten Brutsubstraten für M.a.110 die höchste Wirksamkeit. In der Mandelmehlvariante hatten sich jedoch bei der B.ba.56-Kontaminierung mit durchschnittlich 16 adulten *P. interpunctella* deutlich weniger entwickelt, als bei M.a.110 kontaminiertem Mandelschrot mit 28 Faltern.

5.7.4 Wirksamkeit einer Pilzbehandlung unter Ausnutzung der Lockwirkung eines geeigneten Brutsubstrates

Aus Gefäßen mit losen unbehandelten Haferflocken schlüpften die meisten Dörrobstmotten. Von jeweils vier befruchteten Weibchen entwickelten sich durchschnittlich 165 Falter (Tab.19). Zieht man die Ergebnisse vorheriger Untersuchungen zur Entwicklung der Dörrobstmotten auf

Mandelbruch in Betracht, zeigen sich jedoch deutliche Unterschiede in der natürlichen präimaginalen Mortalität, welche ein Hinweis dafür sind, daß der Schaden an unterschiedlichen Produkten sehr verschieden sein kann.

Die Schlupfraten aus verpacktem Mandelbruch waren mit durchschnittlich 144 Falter pro vier Weibchen ebenfalls gering, was jedoch mit dem mechanischen Schutz der Verpackung vor einer Invasion der Eilarven erklärt werden kann.

Wurden Haferflocken gleichzeitig mit geröstetem kontaminiertem Mandelbruch angesetzt (ger.M.bruch), kam es durch die Wirkung des behandelten Bruts substratköders zu einem deutlichen Rückgang der Populationsentwicklung. Bei den Haferflocken-Varianten verringerte sich auf diese Weise die Anzahl pro Gefäß geschlüpfter adulter Dörrobstmotten von 82 auf 39. Betrachtet man die Anzahl geschlüpfter Falter je Versuchskäfig, kann man einen Rückgang von durchschnittlich 165 auf 59 verzeichnen.

Tab. 19: Wirksamkeit Pilz behandelter Bruts substratköder auf die Populationsentwicklung von *P. interpunctella*

Behandlung	ger.M.bruch	verp.M.bruch	Geschlechts- verhältnis *	verp.M.bruch	verp.M.bruch	Geschlechts- verhältnis	t-Test
Falter je Gefäß	10,5	60,25	0,52	69,5	74,5	0,47	
Falter je Käfig	70,75			144,0			sign.

Behandlung	ger.M.bruch	Haferflocken	Geschlechts- verhältnis	Haferflocken	Haferflocken	Geschlechts- verhältnis	t-Test
Falter je Gefäß	19,0	39,5	0,46	84,25	80,5	0,51	
Falter je Käfig	58,75			164,75			sign.

* ♂ Weibchen

♂ Weibchen + Männchen

Wird verpackter Mandelbruch (verp.M.bruch) gleichzeitig mit geröstetem Pilz kontaminiertem Mandelbruch (ger.M.bruch) gelagert, ist die Lockwirkung des Bruts substratköders auf befruchtete Weibchen als geringer einzuschätzen. Die Anzahl geschlüpfter Falter pro Verpackung verminderte sich von durchschnittlich 72 Falter auf 60 bei Vorhandensein von geröstetem Pilz kontaminiertem Mandelbruch.

Betrachtet man die Anzahl adulter Dörrobstmotten der Varianten mit geröstetem kontaminiertem Mandelbruch, lassen sich mit 10,5 und 19 Falter je Gefäß geringe Unterschiede in der Attraktivität loser Haferflocken und verpackter Mandeln erkennen.

Haferflocken sind somit in Bezug auf die Nahrungsqualität für *Plodia*-Larven ein schlechtes Substrat und besitzen nur geringe ölfaktorische Lockwirkung auf die Weibchen. Das Geschlechterverhältnis wurde durch das Brutsubstrat nicht beeinflusst (1:1).

5.7.5 Wirkung einer Konidienanwendung nach Oberflächenbehandlung von Verpackungsmaterial

Die durchgeführten Untersuchungen dienten einer zielgerichteten Anwendung der bei den Wirksamkeitsüberprüfungen auf Eier und schlüpfende Eilarven ermittelten Bekämpfungseffekte entomopathogener Pilze.

In Tabelle 20 werden die in Käfigversuchen ermittelten Bekämpfungsergebnisse der Pilzbehandlungen von Verpackungsmaterial aufgelistet.

Die Auswertung des zweifaktoriellen Versuches belegte signifikante Effekte der Pilzbehandlung und der Schaderregerdichte auf die Populationsentwicklung von *P. interpunctella*.

Generell war für die beiden Pilzbehandlungen bei sämtlichen Schaderregervarianten ein signifikanter Effekt auf die Populationsentwicklung von *P. interpunctella* feststellbar. Bei Berücksichtigung der Anzahl Larven pro Versuchskäfig geht aus der Behandlung der Pappkartons mit M.a.110 die größte Wirkung auf einen Befall der verpackten Ware hervor. Die Behandlungseffekte waren bei sämtlichen Schaderregerdichten auf dem signifikant höchsten Niveau.

Die Tabelle 20 verdeutlicht darüber hinaus einen von der Telmion-Behandlung verursachten Dezimierungseffekt auf die Populationsentwicklung von *P. interpunctella*.

Ein Vergleich der angesetzten Weibchen mit der Anzahl sich entwickelnder Larven verdeutlicht die erhöhte Wirksamkeit der Pilzbehandlungen bei geringerer Erregerdichte. So entwickelten sich lediglich acht Larven pro Weibchen, wenn die Pappkartons mit M.a.110 kontaminiert waren und in jedem Versuchskäfig zwei Dörrobstmottenweibchen freigelassen wurden. Beim Ansatz von acht Weibchen pro Versuchskäfig konnten hingegen durchschnittlich 34 Larven pro Weibchen nachgewiesen werden. Eine Erhöhung der Anzahl befruchteter Weibchen führte jedoch auch bei den unbehandelten Kontrollvarianten zu einer steigenden Anzahl von Dörrobstmottenlarven pro Weibchen. Die Ursache hierfür könnte in einer vermehrten Eizahl der durch die erhöhte Insektendichte gestreßten Weibchen liegen. Andererseits ist bei erhöhter Larvendichte auch mit einer verstärkten Konkurrenz zwischen den Tieren zu rechnen, die zu einer gesteigerten Larvenmortalität führen kann.

Tab. 20: Wirksamkeit einer Pilzbehandlung von Verpackungsmaterial auf die Entwicklung von *Plodia interpunctella*

Behandlung	Anzahl Weibchen pro Käfig	Anzahl Larven pro Käfig	Anzahl Larven
			Anzahl Weibchen
M.a.110	2	16,0	8,0
	4	103,2	25,8
	8	271,2	33,9
B.ba.56	2	34,7	17,4
	4	135,5	33,9
	8	360,2	45,0
Telmion	2	71,5	35,8
	4	186,0	46,5
	8	518,4	64,8
Kontrolle	2	89,6	44,8
	4	210,0	52,5
	8	570,0	71,2

Die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse belegten weiterhin signifikante Wechselwirkungen zwischen der Pilzbehandlung und der Anzahl an Dörrobstmottenweibchen.

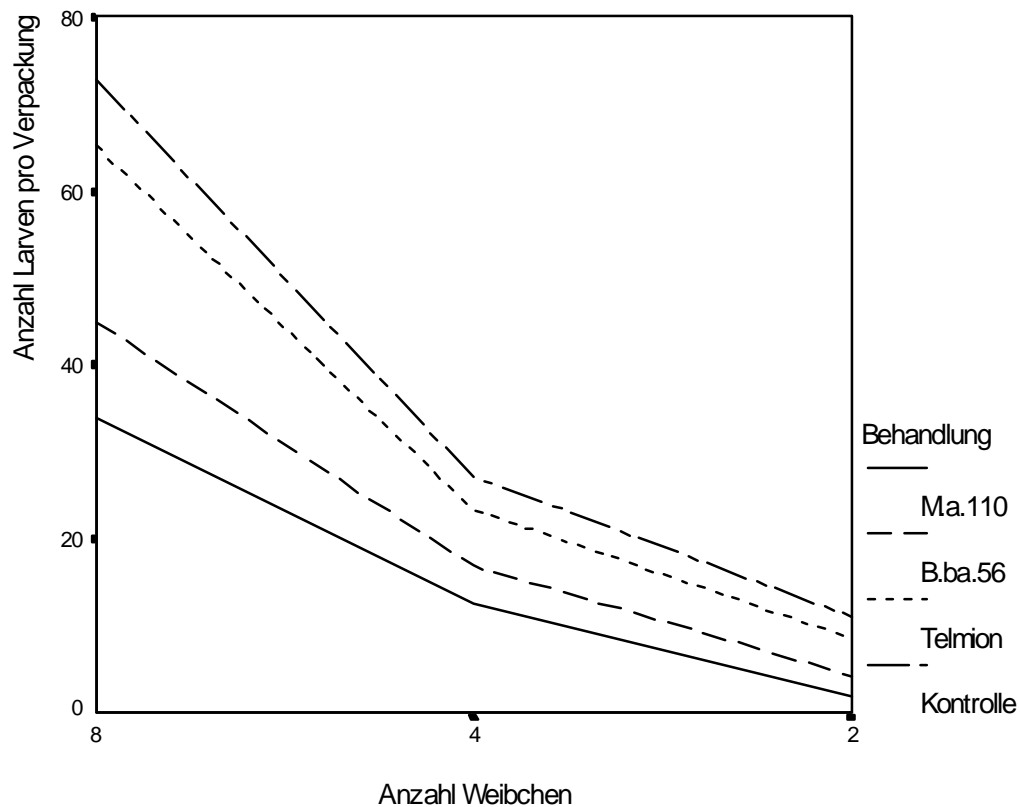


Abb. 35: Wechselwirkungen zwischen der Schaderregerdichte und der Behandlung von Verpackungsmaterial mit entomopathogenen Pilzen

Die Differenzierung der Anzahl Larven pro Verpackung der einzelnen Behandlungsvarianten stieg mit erhöhter Anzahl befruchteter Weibchen pro Versuchskäfig deutlich an.

5.7.6 Übertragung der Konidien von *M. anisopliae* 110 unter Ausnutzung der Lockwirkung von Sexualpheromonen der Dörrobstmotte

Die Wirkungen entomopathogener Pilze auf die Nachfolgeneration nach einer zum Zeitpunkt der Kopulation erfolgten Inokulation der Weibchen wurden bereits im Abschnitt 5.7.1 dargestellt. Es war das Ziel der vorliegenden Untersuchungen, die Möglichkeiten der Einführung und Übertragung hoch virulenter Pilzstämme bei adulten Dörrobstmotten zu überprüfen.

Die Untersuchungen erfolgten in Anlehnung an die von KELLEN und HOFFMANN (1987) sowie VAIL et al. (1993) entwickelten Methoden. Die Ergebnisse des Flugversuches finden sich in Abbildung 36.

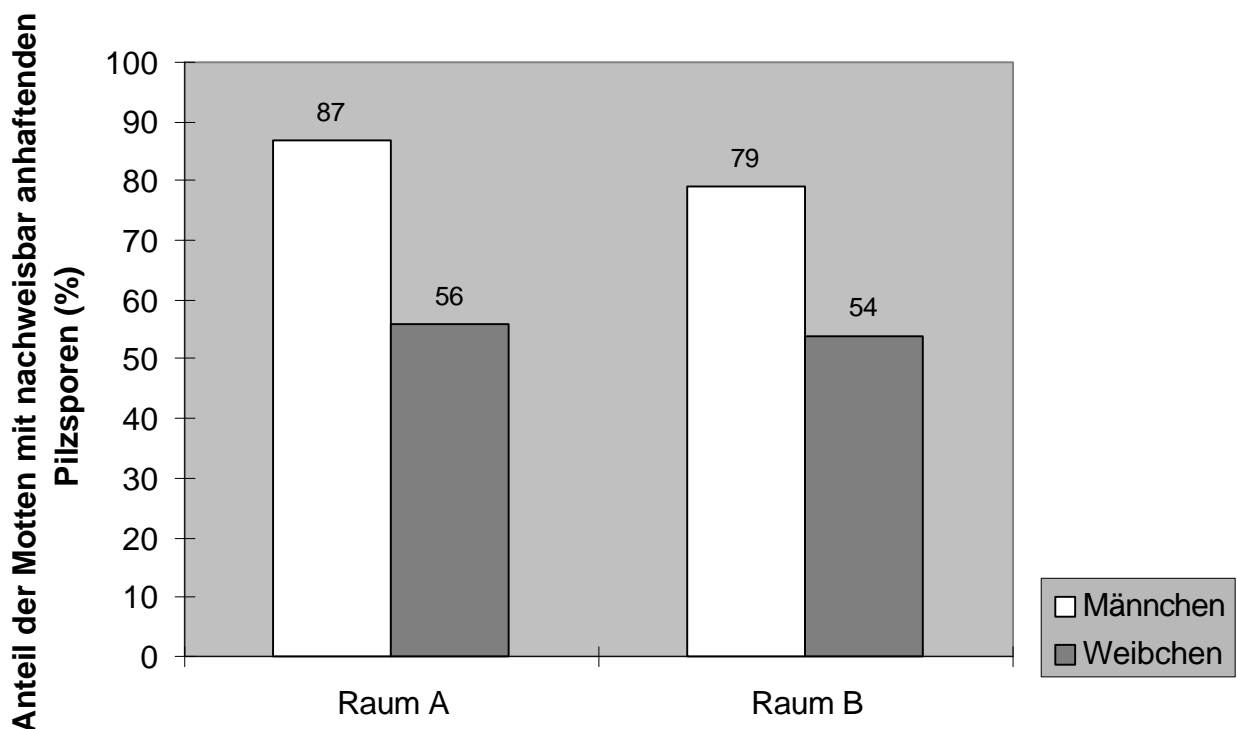


Abb. 36: Übertragung der Konidien von *M. anisopliae* 110 auf Imagines der Dörrobstmotte unter Verwendung der Lockwirkung von Sexualpheromonen

Die Ergebnisse der Untersuchungen belegen eine hohe Männchen-Anlockungsrate der TDA-Pheromone bei Dörrobstmotten. Obwohl männliche und weibliche Puppen simultan angesetzt

wurden, konnte in beiden Versuchsräumen bei einem hohen Anteil der adulten Männchen der Konidienstaub nachgewiesen werden.

Durch den gewählten Versuchsaufbau wurden im Verlauf der Untersuchungen die Konidien auf 54% bzw. 56% der adulten Weibchen übertragen. Die Differenzen im Anteil der Männchen mit nachweisbar anhaftenden Pilzsporen zwischen Versuchsraum A und B führten somit zu keinen nennenswerten Unterschieden bei den während der Kopulation inokulierten Weibchen.

6 Diskussion

Wie die geschilderten Versuche zeigten, waren mehrere Pilze der Ordnung *Hyphomycetales* gegenüber der Mehlmotte und der Dörrobstmotte pathogen. Es handelt sich um Stämme von *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces farinosus* und *Paecilomyces fumosoroseus*. Diese Pilzarten können zahlreiche Insekten aus verschiedenen Ordnungen befallen (MÜLLER-KÖGLER 1965, SCHABEL 1976, DAOUST und ROBERTS 1983).

Für einen erfolgreichen Einsatz entomopathogener Pilze war es zunächst erforderlich, hoch virulente und spezifisch wirkende Pilzstämme, welche über einen längeren Zeitraum lagerfähig sind, in einer Massenproduktion herzustellen und gleichzeitig die Bedingungen für die Praxisnutzung zu definieren.

6.1 Beziehungen zwischen Wirt, Erreger und Umwelt

Der Erfolg einer Bekämpfungsmaßnahme mit entomopathogenen Pilzen hängt von einer größeren Anzahl biotischer und abiotischer Faktoren ab, die in komplexer Weise sich gegenseitig beeinflussen können. Da es zu Interferenzen und Synergismen kommen kann, besteht das Wirts-Pilz-System nicht nur aus der Summe der einzelnen Einflußfaktoren. (CARRUTHERS und SOPER 1987). Die ungenügende Berücksichtigung dieser Wechselbeziehungen führte nicht selten zu Wirkungsminderungen in der Praxisanwendung von auf der Basis von Laboruntersuchungen als virulent eingestuften Pilzstämmen (PINNOCK und BRANDT 1981).

Die Untersuchungen der Infektionsbedingungen auf seiten der Pilze, der Wirtsinsekten und der Umwelt erforderten spezielle Testverfahren. Mit Hilfe standardisierter Biotests war es möglich, die Virulenz der verschiedenen Pilzstämme gegenüber *E. kuehniella* und *P. interpunctella* unter variierenden Umweltbedingungen zu vergleichen. Auch für die Ermittlung der Anfälligkeit unterschiedlicher Entwicklungsstadien der Zielinsekten erwiesen sich die beschriebenen Testverfahren als zweckmäßig und statistisch verwertbar.

Wichtige Auswahlkriterien insektenpathogener Pilze für den Einsatz zur biologischen Bekämpfung sind die Wirtsspezifität und die Virulenz der Erreger. Für *B. bassiana* und *M. anisopliae* konnten bisher mehr als 200 Wirtsinsektenarten festgestellt werden (McCOY et al.

1985). Es zeigte sich jedoch immer wieder, daß einzelne Stämme eine ausgeprägte Wirtsspezifität besitzen (FARGUES 1976 ; FERRON et al. 1972).

Im Verlauf der durchgeführten Untersuchungen wurden durch die meisten getesteten Pilzstämmen Mortalitätseffekte bei *E. kuehniella* und *P. interpunctella* erzielt. Die Infektion war mit Erregern erfolgreich, die ursprünglich nicht aus vorratsschädlichen Motten stammten. Lediglich beim Pilzstamm *B. bassiana* 112, welcher ursprünglich aus *Cossus cossus* isoliert wurde, konnte eine Pathogenität gegenüber den getesteten Motten nicht nachgewiesen werden. *B. bassiana* 56 war hingegen gegenüber *E. kuehniella* und *P. interpunctella* pathogen.

Eine isolatbedingte Wirtsspezifität wurde ebenfalls bei Untersuchungen von KMITOWA et al. (1977), FERRON und DIAMONDÉ (1968) sowie FERRON et al. (1972) für *Metarhizium anisopliae* sowie von KMITOWA et al. (1977) für *Paecilomyces* sp. nachgewiesen. Bei Untersuchungen mit einem Isolat von *B. bassiana* erzielten RIBA et al. (1982) eine besonders hohe Virulenz gegenüber Larven von *Bombyx mori*, konnten jedoch mit dem gleichen Isolat keine Infektionen bei Larven von *Ostrinia nubilalis* bewirken. Nach FARGUES et al. (1976) wird die Spezifität der Pilzstämmen durch die Mechanismen auf und im Insektenintegument sowie im Haemocoel bestimmt.

Hoch virulente Pilzstämmen, die innerhalb kurzer Zeit ihre Wirtstiere abtöten, werden bevorzugt zur Bekämpfung von Insekten mit großem Schadpotential eingesetzt, bei dem bereits wenige Insekten einen hohen ökonomischen Verlust hervorrufen können. Für einen erfolgreichen Einsatz gegen vorratsschädigende Kleinschmetterlinge mußten somit im Verlauf von Virulenztests, unter den zur Verfügung stehenden Pilzstämmen die virulentesten Erreger bestimmt werden.

Die vorliegenden Untersuchungen lassen bei der Mehrzahl der getesteten Pilzstämmen bereits bei optimaler Gestaltung der Temperatur- und Luftfeuchtigkeitsverhältnisse Virulenzunterschiede gegenüber *E. kuehniella* und *P. interpunctella* erkennen. Lediglich *P. fumosoroseus* 10 war gegenüber beiden Insekten hoch virulent. Gegenüber *E. kuehniella* erwiesen sich *M. anisopliae* 73, *P. farinosus* 34 und *P. fumosoroseus* 10 am geeignetsten. Die höchste Virulenz gegenüber *P. interpunctella* wurde für *M. anisopliae* 110, *B. bassiana* 56 und *P. fumosoroseus* 10 nachgewiesen. Virulenzunterschiede entomopathogener Pilze der Ordnung *Hyphomycetales* gegenüber verschiedenen Zielinsekten wurden ebenfalls von FARGUES (1976) ermittelt. JONES et al. (1996) berichteten über isolatbedingte Virulenzunterschiede bei verschiede-

nen Stämmen von *M. anisopliae* und *B. bassiana*. Generell waren sämtliche *Metarhizium*-Stämme gegenüber *Coptotermes formosanus* virulenter als die getesteten *B. bassiana* Stämme. Aufgrund der geringsten LC₅₀-Werte konnte jedoch für einen *Beauveria*-Stamm die höchste Virulenz unter sämtlichen Pilzstämmen nachgewiesen werden.

Die Differenzen in der Wirtsspezifität und der Virulenz entomopathogener Hyphomyceten können mit der unterschiedlichen Anpassungsfähigkeit der Pilzstämmen an Wirtstiere erklärt werden. So wiesen FERRON et al. (1972) eine besonders enge Anpassung bestimmter Isolate von *M. anisopliae* an ihre Originalwirte nach. Bei anderen Pilzarten wie z.B. *P. fumosoroseus* ist die Abhängigkeit der Stämme von ihren Originalwirten weniger stark ausgeprägt bzw. nicht nachweisbar (IGNOFFO et al. 1976; MANIANIA und FARGUES 1984). Für *B. bassiana* konnte ein genetischer Polymorphismus des Alpha-Esterase-Systems bei Isolaten unterschiedlicher geographischer Herkunft und somit bei Isolaten mit verschiedenem Wirtskreis nachgewiesen werden (FERRON 1981; RIBA et al. 1987; POPRAWSKI et al. 1988).

Um die von verschiedenen Autoren festgestellte Abnahme der Virulenz nach wiederholter Anzucht auf künstlichen Nährböden zu vermeiden, erwies sich eine Wirtspassage aller acht Monate als geeignet (MÜLLER - KÖGLER 1965, FARGUES und ROBERT 1983a und WICK 1990).

Die verschiedenen Umweltfaktoren beeinflussen die Physiologie der Pilze, ihre Fähigkeit, den Wirt zu infizieren, den Verlauf der Infektion, die Wirtsanfälligkeit, die Sporulation auf Kadavern und die Lebensfähigkeit von infektiösen Einheiten (FERRON 1981; FERRON et al. 1991). Der perkutane Infektionsweg macht entomopathogene Pilze in besonderem Maße von den zum Zeitpunkt der Infektion herrschenden Umweltbedingungen abhängig. Da bei der Bekämpfung vorratsschädlicher Motten die Pilzsporen nicht der Sonnenstrahlung ausgesetzt sind, kommt den Temperatur- und Luftfeuchtigkeitsverhältnissen die größte Bedeutung für die Wirksamkeit der Pilze zu.

Bei der Auswahl der Erreger für die biologische Schädlingsbekämpfung mit entomopathogenen Pilzen ist es unabdingbar, deren Temperaturanforderungen zu berücksichtigen. Verschiedene Autoren sehen in optimalen Temperaturbedingungen die wesentliche Voraussetzung für eine erfolgreiche Infektion der Zielinsekten (ROBERTS und CAMPBELL 1977; CARRUTHERS et al. 1985; CARRUTHERS und SOPER 1987).

Die Temperatur beeinflusst neben den Erregern auch die Wirtstiere und tritt darüber hinaus in Wechselwirkung mit anderen Infektionsparametern (FARGUES 1981). So zeigten Stämme

von *M. anisopliae* bei optimalem Tag / Nacht - Rhythmus eine geringere Abhängigkeit vom Temperaturregime und keimten innerhalb eines größeren Temperaturbereiches (WELLING et al. 1994). Verschiedene Autoren (DOBERSKI 1981; STARNES et al. 1993; WEISER 1982) konnten für *M. anisopliae*, *B. bassiana* und *P. farinosus* ein vom Isolat abhängiges Temperaturoptimum nachweisen.

Die im Verlauf von Sporenkeimungsversuchen erzielten Ergebnisse belegen für sämtliche Pilzstämmen hohe Temperaturansprüche. Größere Differenzen im Temperaturoptimum wurden zwischen den getesteten Pilzstämmen nicht erzielt. Ein Temperaturoptimum zwischen 25°C und 30°C läßt die virulentesten Pilzstämmen für den Einsatz zur Vermeidung eines Massenbefalls der Läger in den warmen Sommermonaten geeignet erscheinen. Unterschiede zwischen den Pilzstämmen ergaben sich hinsichtlich der Keimungsraten und der Keimungsgeschwindigkeit. Das beste Keimungsverhalten sowie die geringste Temperaturabhängigkeit konnten bei dem als am virulentesten eingestuften Pilzstamm M.a.110 festgestellt werden. Eine abnehmende Abhängigkeit von optimalen Temperaturverhältnissen bei hoch virulenten Pilzstämmen wurde auch von FARGUES und RODRIGUEZ-RUEDA (1980) beobachtet. CARRUTHERS und SOPER (1987) konnten für *B. bassiana* eine abnehmende Temperaturabhängigkeit mit steigender Inokulumdichte bzw. zunehmender Sensitivität der Entwicklungsstadien von *Ostrinia nubilalis* nachweisen.

Ein hohes Temperaturoptimum muß nicht in jedem Fall die Anwendung der Pilze auf wärmere Einsatzgebiete beschränken. So erzielte DOBERSKI (1981) Infektionen bei *Scolytus scolytus* durch *B. bassiana* und *P. farinosus* bei 2°C. Der Befall überwinternder Wirte wurde für Stämme von *M. anisopliae* und *P. farinosus* nachgewiesen (WEISER 1982). Obwohl die Entwicklung der Erreger unter kühleren Bedingungen verlangsamt ist, besteht prinzipiell die Möglichkeit, auch überwinternde Mottenstadien, wie diapausierende Larven oder Puppen, zu bekämpfen. Hierfür ist die Auswahl besonders Kälte resistenter Pilzstämmen notwendig, da in gemäßigten Breiten nicht selten geringe Temperaturen für die Mißerfolge beim Einsatz von Pilzstämmen mit hohen Temperaturansprüchen ausschlaggebend waren (FERRON et al. 1991).

Beim Einsatz entomopathogener Pilze im Vorratsschutz ergibt sich zwangsläufig die Frage, ob die für Lebensmittelläger charakteristisch geringe Luftfeuchtigkeit eine wirksame Bekämpfung von Lagerschädlingen zuläßt.

Zu Feuchtigkeitsanforderungen entomopathogener Pilze der Ordnung *Hyphomycetales* liegen international unterschiedliche Angaben vor. Mindestens 92% r.F. werden von WALSTAD et

al. (1970), SCHNEIDER (1953) und DOBERSKI (1981) als notwendig für die Konidienkeimung von *B. bassiana*, *M. anisopliae* und *P. farinosus* angegeben. Bei anderen Autoren wurde hingegen eine von hoher Umgebungsfeuchte unabhängige Wirksamkeit erzielt (DUNN und MECHALAS 1963; FARGUES 1972; FERRON 1977; MOORE 1973; RAMOSKA 1984). Nach WICK (1990) können unterschiedliche Angaben zu Feuchtigkeitsanforderungen entomopathogener Pilze auch auf Differenzen im Material und in der Versuchsmethodik zurückgeführt werden. FERRON (1977) ermittelte für *B. bassiana* einen Feuchtigkeitsanspruch von 92% r.F. *in vitro* Keimungsversuchen. *In vivo* Virulenztests mit *Acanthoscelides obtectus* wurde jedoch für den gleichen Pilzstamm eine von der Umgebungsfeuchte unabhängige Wirksamkeit festgestellt.

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse bestätigen grundsätzlich hohe Anforderungen der getesteten Pilze an die relative Luftfeuchtigkeit. Für die Mehrzahl der Stämme kam es bei verringerter Luftfeuchtigkeit zu einem deutlichen Rückgang der Wirksamkeit. Der für M.a.110 anhand der LT₉₀-Werte nachgewiesene niedrigere Verlust an Virulenz läßt auf eine geringere Abhängigkeit virulenter Stämme von optimalen Feuchtigkeitsbedingungen schließen. Es kann angenommen werden, daß bei hoch virulenten Pilzstämmen die Keimung weniger Konidien auf dem Integument für eine erfolgreiche Infektion und eine rasche Abtötung der Wirte ausreichend ist.

Der beschriebene Versuch war so angelegt, daß sich im Ergebnis neben der von der Luftfeuchtigkeit abhängigen Virulenz auch die unterschiedliche Anfälligkeit der beiden Mottenarten widerspiegelt. Insbesondere die LT₉₀-Werte der mit *P. fumosoroseus* 10 behandelten Tiere belegen für Mehlmotten-Imagines einen im Vergleich zu Dörrobstmotten stärkeren Abfall der Empfindlichkeit bei verringerter Luftfeuchtigkeit. Die nur bei geringer Luftfeuchtigkeit feststellbaren Differenzen der Anfälligkeit gegenüber ein und dem selben Pilzstamm lassen auf Unterschiede im Mikroklima auf dem Integument beider Insekten schließen. Besonders unter trockenen makroskopischen Bedingungen kann dem Mikroklima auf dem Insekt eine entscheidende Bedeutung zukommen.

Der Einfluß der Ernährungsfaktoren auf das Infektionspotential der Pilze wurde bisher nur an wenigen Beispielen untersucht (FERRON et al. 1991). Während BAJAN und KMITOWA (1973), KMITOWA (1978 und 1980) sowie FARGUES und ROBERT (1983b) einen Einfluß des Ernährungszustandes auf die Virulenz von Pilzen nachweisen konnten, erzielten DAOUST und ROBERTS (1983) keine Differenzen in der Wirksamkeit bei unterschiedlich ernährten

Pilzen. Nach McCoy et al. (1985) kann die Anzucht entomopathogener Pilze unter suboptimalen Nährstoffbedingungen zu Virulenzeinbußen führen, obwohl andere physiologische Merkmale unverändert bleiben.

Vorrangiges Ziel der beschriebenen Virulenztests war es, für jedes Wirtsinsekt die wirksamsten Pilzstämme auf speziellen, den Ansprüchen der Erreger am besten entsprechenden Nährböden, zu kultivieren. Eine Magerernährung der getesteten Pilzstämme wurde nicht in Betracht gezogen, da extrem nährstoffarme Nährböden nicht geeignet sind, um die für die Versuche notwendige Menge an Infektionsmaterial zu erzeugen.

Vorher durchgeführte Versuche zum Einfluß der Nährbodenzusammensetzung auf die Sporulation der Pilze dienten der Bereitstellung ausreichender Mengen an Infektionsmaterial.

Im Verlauf der Untersuchungen konnte für jeden Pilzstamm eine unterschiedliche Anzahl an Kulturmedien ermittelt werden, auf denen eine ausreichende Konidienproduktion möglich ist. Eine von Nährstoffen ausgehende Wirkung auf die Sporulation von *M. anisopliae*, *B. bassiana*, *P. farinosus* und *P. fumosoroseus* wurde bereits durch verschiedenen Autoren herausgestellt (BARNES et al. 1975; CAMPBELL et al. 1983; DAOUST und ROBERTS 1983; McCOY et al. 1985).

Ein Zusammenhang zwischen der Konidienproduktion und einer Virulenzsteigerung konnte bei den verwendeten Nährböden nicht herausgestellt werden. Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse bestätigen jedoch für sämtliche Pilzstämme eine Virulenz steigernde Wirkung bestimmter Nährböden. Für die Behandlung der als anfälliger eingestuften Dörrobstmotte führte die Kultur bestimmter Pilzstämme auf geeigneten Nährmedien zu einem gewissen Ausgleich der durch die verringerte Luftfeuchtigkeit hervorgerufenen Virulenzeinbußen. Neben der Erhöhung der Sporendosierung kann demnach auch die Gestaltung optimaler Anzuchtbedingungen dazu beitragen, ungünstig Infektionsparameter zu kompensieren.

Für *B. bassiana* konnte KMITOWA (1978) nur bei variierender Stickstoffquelle Auswirkungen der Nährbodenzusammensetzung nachweisen. Die Virulenz von *P. farinosus* und *P. fumosoroseus* wurde hingegen auch von der Kohlenstoffquelle beeinflusst. AL-AIDROOS und SEIFERT (1980) ermittelten für *M. anisopliae* eine enge Beziehung zwischen der Fähigkeit, Stärke aufspalten zu können und der Virulenz des Pilzes. Die Aufspaltung unterschiedlicher Proteine wirkte sich hingegen nicht auf die Virulenz aus. Die Autoren sahen in der Anzucht auf stärkehaltigen Kulturmedien eine Voraussetzung für die Induktion bestimmter Enzyme und

somit für eine hohe Virulenz von *M. anisopliae*. Nach FERRON et al. (1991) und LATGÈ (1975) dürften die Ursachen für die Erhöhung der Virulenz in einer vom Ernährungszustand bewirkten Verbesserung der Infektiosität liegen, da die während der Kultur zur Verfügung stehende Kohlenstoffquelle sich auch auf die Konidienkeimung auswirken kann.

Bei Betrachtung des Einflusses der Nährbodenzusammensetzung auf die Virulenz der einzelnen Pilzstämme verdeutlichen die Untersuchungsergebnisse einen vom Pilzstamm abhängigen Nährstoffanspruch. Die ermittelten LT_{50} - und LT_{90} -Werte belegen für die beiden *Metarhizium*-Stämme unterschiedliche Nährstoffansprüche. Während M.a.110 die höchste Virulenz nach Anzucht auf Hfa hatte, zeigte M.a.73 die höchste Wirksamkeit bei Kultur auf SPA. Die unterschiedlichen Nährstoffansprüche von Pilzstämmen der gleichen Art lassen auf Differenzen im Vermögen, bestimmte Nährstoffe aufspalten zu können, schließen. Diese Stammeigenschaften entomopathogener Pilze wurden bereits von verschiedenen Autoren hervorgehoben (MÜLLER-KÖGLER 1965; KMITOWA 1978).

Gegenüber beiden Mottenarten war Paec.f.10 bei Anzucht auf CzD gluc am virulentesten. Anders verhielt es sich bei der Virulenz steigernden Wirkung der Nährbodenzusammensetzung. Ein Vergleich der Anfälligkeit der beiden Mottenarten belegt für Paec.f.10 einen größeren Einfluß der Nährbodenzusammensetzung auf die Wirksamkeit des Pilzes bei der Behandlung von *P. interpunctella*. Ein wirtsabhängiger Einfluß der Nährbodenzusammensetzung wurde auch bei Untersuchungen von KMITOWA (1978) für *P. farinosus* und *P. fumosoroseus* ermittelt.

Neben der Virulenz der Erreger hat die Infektionsdichte einen erheblichen Einfluß auf das Zustandekommen und den Verlauf von Pilzinfektionen. So wurde von verschiedenen Autoren eine positive Korrelation zwischen der Sporendosis und der Mortalität behandelter Insekten nachgewiesen (FERRON 1978; FERRON 1981). Bei Untersuchungen von WALSTAD et al. (1970) wurde gezeigt, daß für einen wirksamen Einsatz insektenpathogener Pilze die Dosierung der Sporen wichtiger als optimale Feuchtigkeitsbedingungen ist.

Eine hohe Sporendosierung führt jedoch nur bei optimaler Verbreitung der Erreger im Wirtshabitat zu der gewünschten Wirksamkeit (TANADA und FUXA 1987). Da kleine und kurzlebige Insekten eine geringere Wahrscheinlichkeit haben, mit einer ausreichenden Menge an Sporen in Kontakt zu kommen, sind diese mit höheren Dosierungen zu behandeln (MÜLLER-KÖGLER und STEIN 1970; BAJAN und KMITOWA 1972).

Die Untersuchungsergebnisse widerspiegeln neben der die Mortalität steigernden Wirkung erhöhter Sporendosierungen auch Wechselwirkungen mit anderen Infektionsparametern. So wurden für den als weniger virulent eingestuften Pilzstamm Paec.f.10 bei Dörrobstmotten-Imagines nur bei höher formulierten Sporentiter ähnliche Mortalitätsraten erzielt wie für B.ba.56 und M.a.110.

Aus den ermittelten Mortalitätsraten für *P. interpunctella*, welche sich aus der Behandlung mit unterschiedlich formulierten *M. anisopliae*- und *B. bassiana*-Präparaten ergaben, können Auswirkungen auf den Einfluß der Inokulumdichte abgeleitet werden. Insgesamt ist bei bestimmten Formulierungen von einer verbesserten Anhaftung der Pilzsporen am Wirtsintegument auszugehen. Diese ist jedoch aufgrund der unterschiedlichen Eigenschaften der Insektenoberfläche bei Larven und Imagines vom Entwicklungsstadium des Wirtes abhängig. Zur Behandlung der Dörrobstmotten-Imagines erwiesen sich die Sporenstäube als geeigneter. Larvenstadien waren hingegen gegenüber der ÖL-Formulierung am anfälligsten.

Nach PINNOCK und BRAND (1981) sind Dosis-Wirkung Beziehungen bei entomopathogenen Pilzen in erster Linie von den herrschenden Umweltfaktoren abhängig. Die Versuchsergebnisse der Behandlung von Dörrobstmotten-Eiern zeigen insbesondere für die *P. fumosoroseus*-Varianten von der Temperatur abhängige Mortalitätsraten bei gleicher Sporendosierung. Die behandelten Dörrobstmotten-Eier verpilzten bei der für die Infektion als günstiger eingestuften Temperatur von 25°C auch bei geringerer Inokulumdichte zu einem höheren Anteil.

Die Infizierbarkeit mehrerer Entwicklungsstadien eines Schadinsekts durch entomopathogene Pilze wird von verschiedenen Autoren als entscheidender Vorteil gegenüber anderen biologischen Antagonisten betrachtet (MÜLLER-KÖGLER 1965; FRANZ und KRIEG 1982; ZIMMERMANN 1985; WRIGHT und ROBERTS 1987; BECK 1996). Da im Lager die verschiedenen Entwicklungsstadien innerhalb einer Schaderregerpopulation mehr oder weniger zeitlich überlappt anzutreffen sind, hätte deren simultane Bekämpfung erheblichen Einfluß auf den Erfolg der Maßnahme.

Das Potential entomopathogener Pilze als biologisches Bekämpfungsmittel kann nur unter Berücksichtigung bestimmter, den Infektionsverlauf beeinflussender Eigenschaften der Wirtsinsekten beurteilt werden. Neben der bereits geschilderten wirtsartabhängigen Anfälligkeit wurden für zahlreiche Zielinsekten stadienbedingte Resistenzunterschiede nachgewiesen, welche auf der Ausprägung des Wirtsinteguments zurückzuführen sind (MÜLLER-KÖGLER 1965).

Die vorliegenden Untersuchungen lassen eine Anfälligkeit sämtlicher getesteter Entwicklungsstadien der Dörrobstmotte gegenüber M.a.110, B.ba.56 und Paec.f.10 erkennen. Bei Betrachtung der Mortalitätsraten der einzelnen Larvenstadien kann für alle Pilzstämmen die höchste Wirksamkeit gegenüber den L₁-Larven nachgewiesen werden. Die direkte Behandlung jüngerer und älterer Larven mit unterschiedlich konzentrierten Sporenpräparaten von M.a.110 und B.ba.56 belegen eine hohe Anfälligkeit der L₁-Larven gegenüber sämtlichen getesteten Formulierungen, während die L₅-Larven eine gewisse Resistenz auch bei höheren Dosierungen aufweisen. Die von BECK (1996) für *M. anisopliae* an *Otiorhynchus sulcatus* festgestellte isolatbedingte Stadienspezifität konnte im Verlauf der Untersuchungen nicht nachgewiesen werden. Der mit der Larvenentwicklung einhergehende beträchtliche Rückgang der Pilzanfälligkeit von *P. interpunctella* impliziert somit die Notwendigkeit, die Behandlung auf jüngere Larvenstadien zu konzentrieren.

Die erleichterte Infektion junger Larvenstadien ist nach BUCHER (1964), MÜLLER-KÖGLER (1965) und FERRON (1978) durch die noch nicht ganz ausgehärtete Kutikula der Wirtstiere zu erklären. Andererseits geht die Individualentwicklung der Insekten auch mit einer Veränderung der chemischen Zusammensetzung des Integuments einher. So enthält das Integument von älteren Larven und Imagines häufig einen höheren Anteil mittellanger gesättigter Fettsäuren (C₈ - C₁₂), welche die Keimung der Konidien von *B. bassiana* und *P. farinosus* hemmen (SMITH und GRULA 1982; SAITO und AOKI 1983; KERWIN 1983).

Die Anfälligkeit von Dörrobstmotten-Eiern ist aus praktischer Sicht von besonderem Interesse, da eine Bekämpfung außerhalb des Lagerguts abgelegter Eier dazu beitragen könnte, den Populationsaufbau einzudämmen und durch Verhinderung einer Sporenkontaminierung des Lagergutes gleichzeitig den strengen lagerhygienischen Anforderungen besser zu entsprechen. Bei Betrachtung der Wirksamkeit der Pilzstämmen gegenüber Eiern sind jedoch nur bei der Anwendung hoher Inokulumdichten und unter günstigen Temperaturbedingungen ausreichende Mortalitätsraten zu erzielen. Eine nachträgliche Verpilzung geschlüpfter Eilarven, wie es von ZIMMERMANN (1982a) und POPRAWSKI et al. (1985) für *Otiorhynchus sulcatus* sowie von RODRIGUEZ-RUEDA und FARGUES (1983) für verschiedene Noctuiden beobachtet wurde, konnte mit dem gewählten Versuchsaufbau nicht nachgewiesen werden.

Die häufig eingeschränkte Anfälligkeit der Eier gegenüber entomopathogenen Pilzen wurde bereits von verschiedenen Autoren hervorgehoben (FERRON 1985; St.LEGER et al. 1987). RIBA und MARCANDIER (1984) erzielten mit *B. bassiana* und *M. anisopliae* bei Eiern von

Ostrinia nubilalis nur unter gesättigten Feuchtigkeitsbedingungen Infektionen. ZIMMERMANN (1982a) beobachtete außerdem für *Otiorynchus sulcatus* mit zunehmendem Eialter eine steigende Befallsresistenz gegenüber *M. anisopliae*, die er auf eine fortschreitende Sklerotisierung des Eichorions zurückführte.

Die Anhaftung der Konidien auf dem Integument von Insekten hängt von verschiedenen Bedingungen ab, die durch den Wirt, den Erreger und die Umwelt bestimmt werden. Aus der Literatur ist bekannt, daß geeignete Formulierungen diese Bedingungen so verändern können, daß es zu einer Erhöhung der Infektiosität der Sporen kommt (WEISER 1982; FENG et al. 1994). PRIOR et al. (1988) erzielten für *B. bassiana* eine Erhöhung der Infektionsrate, wenn die Konidien in Kokosnußöl formuliert wurden. McCOY et al. 1985 sahen jedoch die Möglichkeit eines die Infektion fördernden Einflusses von Formulierungen nur für hoch virulente Pilzstämme gegeben.

Es war das Ziel der Untersuchungen, für die als hoch virulent bewerteten Pilzstämme M.a.110 und B.ba.56 Formulierungen zu erstellen, die neben der Förderung der Infektiosität auch positive Auswirkungen auf die Lagerfähigkeit und die Umweltpersistenz der Konidien hatten.

Die Untersuchungsergebnisse bestätigen neben den bereits erwähnten Wechselwirkungen mit dem Entwicklungsstadium von Dörrobstmotten auch eine in Abhängigkeit von der relativen Luftfeuchtigkeit ausgehende Wirkung auf dem Integument anhaftender Konidien bei unterschiedlicher Formulierung. Anhand der dosierungsabhängigen Mortalitätskurven konnte generell gegenüber L₅-Larven für in Telmion formulierte Konidien bei 76% und 96% r.F. eine erhöhte Wirksamkeit nachgewiesen werden. Die Formulierungsbestandteile übten somit eine direkte Förderung des Infektionsprozesses aus. Andererseits bestätigen die Ergebnisse eine ansteigende Differenz zwischen der Wasser-Öl- und der Wasserformulierung bei geringerer Luftfeuchtigkeit. Die LD₅₀ behandelter L₅-Larven betrug für in Telmion formulierte Konidien von *B. bassiana* 56 bei 76% r.F. mit 3586 Sporen / Insekt nur 17% der Dosierung der Wasserformulierung. Bei 96% r.F. wurden hingegen 37% benötigt. In diesem Zusammenhang wurden von verschiedenen Autoren die feuchtebewahrenden Eigenschaften von ölhaltigen Sporenformulierungen hervorgehoben (PRIOR et al. 1988; PRIOR und GREATHEAD 1989; ZIMMERMANN 1992; BATEMAN et al. 1993).

Die Unterschiede zwischen den beiden Formulierungen waren für den virulenteren Pilzstamm *M. anisopliae* 110 auf den getesteten Feuchtigkeitsniveaus geringer, zeigten jedoch die gleiche Tendenz ansteigender Wirksamkeitsdifferenzen unter ungünstigeren Feuchtigkeitsbedingungen.

Ein wirkungsvoller Einsatz insektenpathogener Pilze ist nur möglich, wenn die Lagerbedingungen, unter denen die Biopräparate aufbewahrt werden können, bekannt sind. Für die Vitalität der Erreger können nach MÜLLER-KÖGLER (1965) und FENG et al. (1994) die Bedingungen der Sporengewinnung, die genetisch bedingten Stammeigenschaften sowie biotische und abiotische Umweltfaktoren entscheidend sein. Nach COUCH und IGNOFFO (1981) sollten Mykoinsektizide im Verlauf einer einjährigen Lagerperiode keine größeren Verluste an Keimfähigkeit erleiden, um ökonomisch wettbewerbsfähig zu bleiben.

Über die Lagereigenschaften von entomopathogenen Pilzen liegen in der Literatur aufgrund unterschiedlicher Versuchsbedingungen teilweise stark differierende Beobachtungen vor. Bei MÜLLER-KÖGKER und ZIMMERMANN (1980) behielten Sporen von *M. anisopliae*, *B. bassiana* und *B. brongniartii* bei 4°C ihre Keimfähigkeit im Verlauf einer dreijährigen Lagerung. DAOUST und ROBERTS (1983) erzielten für *M. anisopliae* ein von Luftfeuchtigkeit und Temperatur in gleichem Maße abhängiges Lagerverhalten. Nach einer 24-monatigen Lagerung waren die Sporen noch zu 90% bzw. 66% keimfähig, wenn sie bei 19°C und 97% r.F. bzw. bei 4°C und 0% r.F. aufbewahrt wurden.

In verschiedenen Untersuchungen (FARGUES et al. 1983; DAOUST et al. 1983; FENG et al. 1994) wurde der Einfluß der Formulierungsbestandteile auf Keimungsraten von Sporen entomopathogener Pilze nachgewiesen.

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse bestätigen die Angaben von DAOUST und ROBERTS (1983) einer vorrangig von Umweltbedingungen verursachten Wirkung auf das Keimungsverhalten gelagerter Konidien, belegen jedoch auch die Einflüsse der Formulierungsbestandteile. Die Versuchsergebnisse verdeutlichen weiterhin, daß selbst bei Verwendung der günstigsten Sporenformulierungen und Temperaturstufen eine Lagerdauer von neun Monaten nicht überschritten werden sollte. Für B.ba.56 und M.a.110 führte die Lagerung der Konidien als Wasserformulierung zu dem schnellsten Verlust an Keimfähigkeit. Ein von DAOUST et al. (1983) beobachteter besonders negativer Einfluß pflanzlicher Öle auf die Keimfähigkeit gelagerter Konidien von *M. anisopliae* wurde nicht festgestellt.

Ein wesentlicher Vorteil von mikrobiellen Präparaten im Vorratsschutz ist nach STEIN (1986) neben deren geringeren Giftigkeit auch in der im Vergleich zu Begasungsmitteln längeren Wirksamkeit zu sehen. Da es sich bei Vorratslagern um kurzlebige Systeme handelt - die Lagerzeit beträgt in den meisten Fällen weniger als ein Jahr - ist eine Etablierung der pilzlichen Antagonisten in der Schaderregerpopulation nicht vorgesehen. Die Freisetzung der Sporen muß demzufolge analog einem Pestizideinsatz inundativ erfolgen (STINNER 1977; TANADA und FUXA 1987; FERRON et al. 1991). Andererseits setzt bei einem auf anhaltende Bekämpfungseffekte abzielenden Einsatz gegen vorratsschädigende Kleinschmetterlinge mit Notwendigkeit die Erzielung protektiv anhaltender Langzeiteffekte voraus.

Die Wirkungskdauer der inokulierten Infektionseinheiten wird maßgeblich von der Überlebensfähigkeit der Konidien im Lager bestimmt. FARGUES und ROBERT (1983b) wiesen für *M. anisopliae* eine vom Pilzstamm abhängige Umweltpersistenz. Die verwendeten Stämme verloren ihre Keimfähigkeit in einem Zeitraum von 6-21 Monaten.

Neben den herrschenden Temperatur- und Luftfeuchtigkeitsverhältnissen haben die zerstörerischen UV-Strahlen des Sonnenlichtes einen erheblichen Einfluß auf die Überlebensfähigkeit applizierter Pilzkonidien (IGNOFFO und HOSTETTER 1977; TANADA und FUXA 1987). Verschiedene Autoren (MÜLLER-KÖGLER 1965; TANADA und FUXA 1987; IGNOFFO et al. 1979) heben die Notwendigkeit eines Schutzes von Konidien vor der UV-Strahlung des Sonnenlichtes hervor, um ein zu schnelles Absinken der Keimfähigkeit zu vermeiden. Da vor der UV-Strahlung geschützt, konnte für insektenpathogene Pilze somit in Lagerräumen ein gutes Persistenzvermögen vermutet werden.

Mit Hilfe des verwendeten Versuchsaufbaus war es möglich, einen unter lagerähnlichen Umweltbedingungen sich vollziehenden Abbau der Vitalität applizierter Konidien nachzuweisen. Allerdings diente die Verwendung steriler Objektträger als Untergrund der Charakterisierung eines durch andere Mikroorganismen nicht beeinflussten Persistenzverhaltens.

M.a.110 und B.ba.56 wiesen unter konstanten Klimafaktoren eine hohe Umweltpersistenz auf, wenn die Konidien als Laktose-Sporenstaub oder als Wasser-Öl-Suspension formuliert wurden. Für B.ba.56 konnte ebenfalls bei der Verwendung reiner Konidien ein ähnlich gutes Persistenzverhalten festgestellt werden. Die Untersuchungsergebnisse belegen für die entsprechenden Formulierungen bei M.a.110 eine zehnmonatige und bei B.ba.56 eine elfmonatige Wirkungskdauer und somit die Effizienz für die Spanne einer Lagerperiode. Die sich im Verlauf dieser Zeit in etwa um die Hälfte reduzierende Keimfähigkeit kann durch eine entsprechende

Mindestbemessung applizierter bekämpfungswirksamer Konidienmengen für die Startkontamination ausgeglichen werden.

6.2 Einsatzerprobungen entomopathogener Pilze

Durch das Fehlen von Schadschwellen im Vorratsschutz und der damit verbundenen Forderung nach Schädlingsfreiheit richteten sich bisher sämtliche Strategien auf die Einhaltung einer entsprechenden Prophylaxe und die Durchführung hoch wirksamer Bekämpfungsmaßnahmen, die in der Regel in der Begasung bestehen. Der Einsatz geeigneter Pilzpräparate im Vorratsschutz findet seine Effektivität besonders dort, wo die konventionellen Bekämpfungsmaßnahmen nicht oder sehr begrenzt praktikabel sind. So sind gasdichte Konstruktionen meist für traditionelle Läger in den Tropen und Subtropen nicht realisierbar. Begasungen sind jedoch auch in gemäßigten Breiten in bestimmten Bereichen des Transportes, der Weiterverarbeitung und des Handels gefährdeter Produkte nicht durchführbar.

Bei der Anwendung entomopathogener Pilze zum Schutz gelagerter Güter ist man gezwungen, den besonderen Anforderungen an die Lagerhygiene sowie den Ansprüchen der Verbraucher Rechnung zu tragen.

Einsatzmöglichkeiten entomopathogener Pilze im Vorratsschutz

Aufbauend auf den Untersuchungsergebnissen, welche das Zusammenwirken der Erreger und der Schädlinge unter Lagerbedingungen charakterisieren, wurden mit Hilfe von Versuchen im Labor und Mottenflugkäfigen unter praxisnahen Bedingungen mögliche Einsatzgebiete ausgearbeitet.

Die verschiedenen Entwicklungsstadien vorratsschädlicher Motten sind im Vorratslager sowohl direkt im Lagergut als auch als Ei, Eilarve, verpuppungsreife Wanderlarve oder Imago an Wänden, Fugen oder Verpackungen anzutreffen. Um eine Kontamination von gelagerten Lebensmitteln mit Pilzsporen so weit wie möglich zu vermeiden, zielten die durchgeführten Untersuchungen vorrangig auf die Bekämpfung sich außerhalb des Lagerguts aufhaltender Entwicklungsstadien ab. Unter diesen Bedingungen sind entomopathogene Pilze für eine biologische Bekämpfung von besonderem Interesse, da sie die Fähigkeit besitzen, mehrere Entwicklungsstadien befallen zu können und darüber hinaus unter den Entomopathogenen als einzige in

der Lage sind, das Integument ihrer Wirtstiere aktiv zu durchdringen und somit eine Erkrankung des Insektes auszulösen (MÜLLER-KÖGLER 1965; CERMAKOVA und SAMŠINÁKOVÁ 1960; FERRON 1981; FRANZ und KRIEG 1982).

Die sukzessive Behandlung von kopulierenden Weibchen, deren abgelegten Eier und der schlüpfenden Eilarven wirkte sich dämpfend auf die Populationsentwicklung von Dörrobstmotten aus. Die Untersuchungsergebnisse belegen jedoch auch eine ungenügende Wirkung, wenn die Pilzbehandlung auf ein einzelnes Entwicklungsstadium beschränkt bleibt. So führte eine Inokulation der Pilze bei jungen Dörrobstmottenweibchen zum Zeitpunkt der Kopulation auch mit einer hohen bekämpfungswirksamen Menge an Konidien nicht zu der erwünschten Verpilzung der Imagines noch vor oder zu Beginn der Eiablage, da diese in den meisten Fällen bereits innerhalb der folgenden 24 Stunden einsetzt. Dem Einsatz entomopathogener Pilze gegen kopulierende Weibchen mußten somit weitere Bekämpfungsmaßnahmen folgen, um einen entsprechenden Behandlungserfolg sicherzustellen. In diesem Zusammenhang ist die Bekämpfung der Eier und Eilarven zu sehen, die im Verlauf der Untersuchungen mit M.a.110, B.ba.56 und Paec.f.10 erfolgte. Die Eiablage auf kontaminiertem Untergrund führte neben der Verpilzung eines Teils der Eier vor allem zu einer Dezimierung schlüpfender Eilarven, die unter sämtlichen Entwicklungsstadien der Dörrobstmotte die größte Anfälligkeit aufweisen.

Der beschriebene Modellversuch mit Pilz behandelten Verpackungen war so angelegt, daß sich im Ergebnis der Abschlußbonitur vordergründig die Wirkung der virulenten Pilzstämmen M.a.110 und B.ba.56 auf die Eier und das schlüpfenden L₁-Stadium widerspiegelt. Eine während der Eiablage erfolgende Infektion der Weibchen hätte aufgrund der verspäteten Wirkung mit großer Wahrscheinlichkeit nur geringen Einfluß auf die Befallsstärke.

Von praktischem Interesse war, inwieweit eine oberflächliche Behandlung von Verpackungsmaterial in der Lage ist, gelagerte Güter vor einem Befall durch vorratsschädliche Motten zu bewahren. Die Möglichkeit, verpackte Ware mit Hilfe biologischer Antagonisten zu schützen, wurde bereits von CLINE und PRESS (1990) sowie PRESS und MULLEN (1992) hervorgehoben.

Die Ergebnisse zeigen eine deutliche Reduzierung der Schaderregerpopulation und bestätigen für beide Pilzstämmen die praktische Anwendbarkeit unter lagerähnlichen Praxisbedingungen.

Die Untersuchungsergebnisse verdeutlichen darüber hinaus einen Bekämpfungseffekt bei Applikation einer konidienfreien Telmionlösung. Nach HOPPE (1981) bilden ölhaltige Substanzen

einen Sauerstoff undurchlässigen Film und können dadurch erhöhte Mortalitätsraten bei Eiern und schlüpfenden Eilarven verursachen. Bei der Verwendung ölhaltiger Sporenformulierungen sind somit synergistische Effekte zu erwarten, da die ölhaltigen Bestandteile die Wirksamkeit der Pilzsporen unter trockenen Umweltbedingungen verbessern und gleichzeitig eigene insektizide Eigenschaften besitzen.

Verschiedene Autoren (STEINHAUS 1954; TANADA und FUXA 1987) stellten aufgrund eines gehäufteten Kontaktes zwischen infizierten und gesunden Wirtstieren eine ansteigende Wirkung von Pilzbehandlungen bei hohen Schaderregerdichten heraus.

Aus dem ermittelten Befallsgrad zum Zeitpunkt der Abschlußbonitur läßt sich ein von der Schädlingsdichte verursachter Effekt auf die Wirksamkeit der verwendeten Pilzpräparate ableiten. Insgesamt ist jedoch von einem erhöhten Bekämpfungserfolg nur bei einer geringen Schädlingsdichte auszugehen. Der Einsatz von entomopathogenen Pilzen zum Schutz verpackter Ware bietet sich somit in Bereichen an, in denen die Güter nur über einen kurzen Zeitraum gelagert werden und der Aufbau hoher Schädlingsdichten nicht möglich ist, wie z. B. bei der Aufbewahrung weniger gut lagerbarer Produkte oder im Handel. Die Behandlung von Verpackungen setzt in jedem Fall mit Notwendigkeit die Einlagerung befallsfreier Ware voraus.

Bei manchen gelagerten Produkten, bei denen durch Reinigungs- oder Verarbeitungsmaßnahmen eine Beseitigung der Pilzpräparate weitgehend möglich ist, beispielsweise bei Getreide oder ungeschälten Nüssen, wäre eine direkte Behandlung mit nachweislich für den Menschen harmlosen Mitteln vertretbar. Dies gilt auch für Vorratsgüter, in denen die Anwesenheit von für Warmblüter unbedenklichen Pilzen an sich kein Hinderungsgrund darstellt, wie z.B. bei Futtergetreide oder Saatgut.

Für die Ermittlung der Wirksamkeit auf die Lagergutoberfläche applizierter Konidien erwies sich die gewählte Versuchsdurchführung als praktikabel und führte aus statistischer Sicht zu aussagekräftigen Ergebnissen.

Die Ergebnisse der auf die Oberflächenbehandlung ausgerichteten Versuchsanstellung lassen sich im einzelnen wie folgt interpretieren:

Ausschlaggebend für den Erfolg einer Oberflächenkontamination ist, ob ein auf die Lagergutoberfläche applizierter pilzlicher Antagonist mehrere Entwicklungsstadien der Dörrobstmotte erreicht und bei einer größeren Anzahl von Wirtstieren Infektionen hervorrufen kann.

Oberflächlich applizierte Konidien führen in erster Linie zu einer Dezimierung von Eiern und schlüpfenden Eilarven. Ältere Larvenstadien werden dadurch kaum noch erfaßt. Mit Hilfe des gewählten Versuchsaufbaus konnten jedoch keine Aussagen über die Wirksamkeit einer Oberflächenapplikation auf die Eier und das schlüpfende L₁-Stadium gemacht werden, wenn die Eiablage in tieferen Substratschichten erfolgt. Untersuchungen von SCHMIDT (1982) belegten für die Dörrobstmotte je nach Getreideart Ablagetiefen bis 10 cm. Nach SCHMIDT und WOHLGEMUTH (1979) kann bei einer Oberflächenbehandlung mit Insektiziden oder Mikroorganismen, die vorrangig ausschlüpfende Eilarven bekämpfen, eine Einarbeitung des Mittels in die obere Substratschicht bis 15 cm einen ausreichenden Bekämpfungseffekt gewähren.

Die Schlupftermine der Imagines verdeutlichen eine erhebliche Wirkung oberflächlich applizierter Pilzsporen auf sich langsamer entwickelnde Wirtstiere. Es ist zu vermutet, daß insbesondere eine schnelle Entwicklung von Eiern und Larven des L₁-Stadiums einer erfolgreichen Pilzinfektion entgegenwirken kann.

Zu einer Infektion von Imagines kommt es, wenn die geschlüpften Falter das Lagergut verlassen und bei der Passage der obersten Substratschicht mit den Konidien in Berührung kommen. Häufig weisen frisch aus der Puppe geschlüpfte Insekten noch kein vollständig ausgeprägtes sklerotisiertes Exoskelett auf und sind gegenüber einer Perkutaninfektion durch Pilze anfälliger (MÜLLER-KÖGLER 1965; BECK 1996).

Durch die Kontamination der Substratoberfläche mit M.a.110 kam es bei 59% der Dörrobstmotten-Imagines nach Verlassen des Substrates zu Verpilzungen. Die frühe Infektion bewirkte ein Absterben von Weibchen vor oder während der Ovipositionszeit und hatte somit auch Auswirkungen auf deren Fekundität. Ein darüber hinaus gehender Effekt auf die Eimortalität der Nachfolgeneration wurde hingegen nicht festgestellt. Selbst nachweislich durch den Pilz infizierte Weibchen brachten entwicklungsfähige Eier hervor.

Der besondere Aspekt einer Beimischung hoch virulenter Pilze zum Brutsubstrat ergibt sich aus der Bekämpfung sämtlicher Entwicklungsstadien einer Dörrobstmotten-Population. Wegen der potentiellen Erfaßbarkeit sämtlicher Individuen durch die pilzlichen Antagonisten erlaubt

die vollständige Behandlung von Brut- bzw. Fraßsubstrat grundsätzlich, die Entwicklung der Schädlingspopulation zu unterbinden.

Die vorliegenden Untersuchungen lassen prinzipiell bei allen getesteten Pilzstämmen eine im Vergleich zur Oberflächenbehandlung erhöhte Wirksamkeit erkennen. Eine vollständige Bekämpfung konnte jedoch nicht erzielt werden. Die Durchmischung von Brutsubstrat mit Pilzsporen führte somit nicht zu der gewünschten Unterbrechung des Populationsaufbaus, könnte diesen jedoch erheblich verlangsamen.

Aus den ermittelten Schlupfraten läßt sich die antagonistische Wirksamkeit der applizierten Pilze gegenüber einer gesamten Generation des Schädlings ableiten, ohne die besondere Wirkung auf ein bestimmtes Entwicklungsstadium hervorzuheben. Da die empfindlichen Eilarven sich häufig direkt im Anschluß an den Schlupf in größere Substratteile einfressen, ist zu vermuten, daß ein Teil von ihnen nicht mit einer ausreichenden Konidienmenge in Kontakt kommt und überlebt. Ältere Larven, deren erhöhte Widerstandsfähigkeit nachgewiesen wurde, werden jedoch nicht vollständig durch die Pilze erfaßt. In diesem Zusammenhang sind auch die erhöhten Wirkungsgrade bei der Verwendung von kontaminiertem Mandelmehl zu sehen. Andererseits vermutet HOPPE (1981) bereits eine durch den Zerkleinerungsprozeß ölhaltiger Produkte hervorgerufene Bekämpfungswirkung. Gemahlene Mandeln und Haselnüsse erwiesen sich für die Entwicklung von *P. interpunctella* als sehr ungünstiges Medium. Ungemahlen boten sie den Dörrobstmottenlarven hingegen einen nahezu optimalen Gehalt an Nährstoffen. Es wurde angenommen, daß das Öl aus den durch den Mahlprozeß zerstörten Zellen austritt und von den abgelegten Eiern aufgenommen wird, welche anschließend zum großen Teil ersticken.

Die Möglichkeiten, vorratsschädliche Motten mittels pheromonbeköderter Trichterfallen in größerem Umfang abzufangen oder durch eine Kombination aus TDA-Pheromon mit chemischen Insektiziden zu dezimieren, wurden von verschiedenen Autoren untersucht (TREMATERRA 1988; TREMATERRA 1990; TREMATERRA und BATTAINI 1987; TREMATERRA und CAPIZZI 1991). Andererseits zeigen Dörrobstmottenweibchen ein ausgeprägtes positiv anemotaktisches Verhalten bei Vorhandensein bestimmter Aromastoffe (HOPPE 1981), die insbesondere durch das Rösten von Mandeln oder Haselnüssen entstehen (TAKEI et al. 1974). Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse belegen grundsätzlich für geröstete Mandeln eine starke ölfaktorische Lockwirkung auf Dörrobstmottenweibchen, die auch nach einer Behandlung des Brutsubstrates mit Pilzsporen erhalten bleibt. So entwickelten sich in verpacktem Mandelbruch weniger Dörrobstmottenlarven, wenn gleichzeitig als Alternativsubstrat Pilz be-

handelter gerösteter Mandelbruch den Motten offen dargeboten wurde. Da jedoch auch eine anziehende Wirkung verpackter Mandeln festzustellen war, kann vermutet werden, daß bestimmte Aromen aus den Verpackungen entweichen können. In den für die Motten weniger attraktiven Haferflocken entwickelten sich weniger Nachkommen als in verpacktem Mandelbruch, wenn als Alternative Pilz behandelte geröstete Mandelbruch angeboten wurde. Es ist somit wichtig, mandelhaltige Ware so zu verpacken, daß keine die Eiablage fördernden Aromen aus den Verpackungen entfliehen können. Die Anwendung mit Pilzsporen kontaminierten Substrates als Brut- bzw. Fraßlockstoff ist somit nur dann erfolgversprechend, wenn dieses eine hohe ölfaktorische Wirkung auf Dörrobstmottenweibchen ausübt und gleichzeitig die zu schützende Ware einwandfrei verpackt ist oder sich für die Schadinsekten als ungünstiges Medium erweist. Bei hoher Schädlingsdichte ist es jedoch erforderlich, die kontaminierten Fraßlockstoffe regelmäßig zu beseitigen und durch unbefallene zu ersetzen.

Nach VAIL et al. (1993) stellen die mit Hilfe des TDA-Pheromons erzielten Infektionen bei Dörrobstmotten eine sinnvolle Ergänzung mikrobieller Bekämpfungsstrategien dar.

Die bereits von FOOTT (1976), KELLEN und HOFFMANN (1987) sowie VAIL et al. (1993) durchgeführte Methode, mittels fluoreszenzmikroskopischer Untersuchungen den Nachweis auf dem Integument anhaftender Partikel zu führen, stellte sich als geeignet heraus. Zur Sichtbarmachung der Konidienpräparate erwies sich eine Anfärbung mit Acridinorange als brauchbar.

Die Dörrobstmotte ist außerhalb der gelagerten Ware vor allem als Imago präsent. Vorherige Untersuchungen ließen eine Wirkung auf die Fekundität Pilz behandelte Weibchen nur dann erkennen, wenn die Inokulation der Konidien spätestens zum Zeitpunkt der Kopulation erfolgte. Mit Hilfe des gewählten Versuchsaufbaus, einer Kombination angefärbter Konidien und dem Pheromonlockstoff TDA bei simultaner Freilassung der männlichen und weiblichen Moten, konnten bei über 50% der untersuchten Dörrobstmottenweibchen anhaftende Sporen nachgewiesen werden. Bei VAIL et al. (1993) wurden 83% der Weibchen mit einem Granulosevirus befallen, wenn die Männchen 24 h zuvor freigelassen wurden. Erfolgte die Freilassung hingegen gleichzeitig, wurden die Erreger nur bei 16% der Weibchen nachgewiesen. Die Inokulationsrate der Männchen betrug 87% bzw. 79% und lag damit etwas unter den Resultaten von VAIL et al. (1993).

Der Versuch hat insgesamt gezeigt, daß mit Pilzsporen kontaminierte Pheromonköder keinen vollständigen Befall bewirken, einen Großteil der Weibchen jedoch erfassen und so dazu beitragen können, die Dichte der Mottenpopulation zu verringern. Ausschlaggebend ist die Übertragung einer ausreichenden Sporendichte, die in der Lage ist, sämtliche Individuen des Schädlings zu infizieren. Mit der gewählten Versuchsanordnung konnte dieser Sachverhalt jedoch nicht untersucht werden.

Die Untersuchungen der Pilze im Zusammenhang mit verschiedenen Infektionsparametern sowie die praxisnahen Einsatzerprobungen zeigten insgesamt, daß die Bekämpfung vorratsschädlicher Motten in Lägern grundsätzlich möglich ist. Die Vorteile dieser Methode liegen vor allem in der Bekämpfbarkeit mehrerer Entwicklungsstadien, im Persistenzverhalten der applizierten Konidienpräparate und der damit verbundenen anhaltenden Wirksamkeit, in der einfachen Herstellbarkeit wirksamer Formulierungen sowie in der Vielseitigkeit möglicher Anwendungstechnologien im Lager. Nachteilig für den Einsatz entomopathogener Pilze in Lebensmittellägern kann sich die Virulenzinstabilität der Stämme auswirken. Die mögliche Kontamination des Lagergutes mit Pilzsporen sowie die bisher noch nicht endgültig geklärte Unbedenklichkeit für Warmblüter und die damit verbundenen Risiken für Anwender und Verbraucher stellen bisher die wichtigsten Hindernisse für eine Nutzung im Vorratsschutz dar.

Risiken des Einsatzes entomopathogener Pilze im Vorratsschutz

Das Ausbringen von pathogenen Mikroorganismen im Lager ist mit Problemen verbunden, die über die üblichen Schwierigkeiten einer mikrobiellen Schädlingsbekämpfung hinausgehen.

Zum einen kann es auch bei nachweislich sehr niedriger Toxizität für Warmblüter zu einer geringen Akzeptanz für die eingesetzten Pilze bei Verbrauchern und damit zum Verlust an Renommee führen, da nicht auszuschließen ist, daß abgestorbene und teilweise verpilzte Schädlinge in das Vorratsgut gelangen. Eine Bekämpfung mit entomopathogenen Pilzen bietet sich vor allem in Bereichen an, in denen diesbezüglich der Verbraucher geringere Anforderungen an die Ware stellt und gleichzeitig ein Einsatz chemischer Insektizide nicht erwünscht ist, z.B. bei Waren aus biologisch-dynamischem Anbau.

Das zweite Problem ergibt sich aus der bisher noch nicht endgültig geklärten hygienischen Unbedenklichkeit pilzlicher Biopräparate für den Verbraucher. Lagergüter, die vor dem Verzehr nicht mehr verarbeitet werden, haben jedoch besonders hohe Hygieneansprüche, und ihre Behandlung erfordert somit völlige Klarheit über die parasitischen, toxikologischen und allergenen Eigenschaften der verwendeten Mikroorganismen. Für die Entwicklung pilzlicher Biopräparate und ihrer Kommerzialisierung ergeben sich im Vorratsschutz somit besonders strenge Forderungen durch die Zulassungsbehörde.

M. anisopliae wurde bisher aus mykologisch-medizinischer Sicht am intensivsten untersucht. Zahlreiche Versuche bestätigten einheitlich dem Pilz eine Unbedenklichkeit für Mensch, Säugetier und Pflanze (SCHAERFFENBERG 1968; STAIB 1988; SHADDUCK et al. 1982; ZIMMERMANN 1992). Da es darüber hinaus bei Arbeiten mit diesem Pilz im Labor und im Freiland keine Nebenwirkungen auf den Mensch beobachtet wurden, geht ZIMMERMANN (1992) von einem typischen Insektenpathogen aus, welches für den Menschen gefahrlos ist. Auch *B. bassiana*, *B. brongniartii* und *Verticillium lecanii* gehören nicht zum Spektrum humanpathogener Pilze (MÜLLER-KÖGLER 1967; ZIMMERMANN 1980; ZIMMERMANN 1986). Aussagen über die Unbedenklichkeit weiterer entomopathogener Pilze sind derzeit kaum möglich, da der bisherige Stand der medizinisch-mykologischen Forschung für eine abschließende Beurteilung nicht ausreicht. Aus allergologischer Sicht kann jedoch jeder Pilz von Interesse sein (GRAVESEN 1979).

Für die Einschätzung entomopathogener Pilze als mögliche Antagonisten von Lager-schädlingen ist außerdem deren genetische Variabilität zu berücksichtigen. Die Ergebnisse bestätigen, daß neben den Virulenzeigenschaften der Pilze auch die Temperaturansprüche stammabhängig sein können. SCHAERFFENBERG (1968), ZIMMERMANN (1982b) und ZIMMERMANN (1994) wiesen für verschiedene entomopathogene Pilze Isolate nach, die auch bei Warmblütertemperatur (36-37°C) noch keimten und wuchsen. Der Nutzung von neu gefundenen Isolaten muß deshalb stets eine Untersuchung aus medizinisch-mykologischer Sicht vorausgehen, welche eine allergologische Beurteilung der entsprechenden Präparate beinhaltet.

7 Schlußfolgerungen

Ausgehend von den erzielten Untersuchungsergebnissen können folgende Schlußfolgerungen gezogen werden:

Die Untersuchungen haben gezeigt, daß entomopathogene Pilze der Ordnung *Hyphomycetales* vorratsschädliche Insekten der Ordnung *Lepidoptera* infizieren können. Eine biologische Bekämpfung vorratsschädlicher Motten mit entomopathogenen Pilzen scheint somit grundsätzlich möglich.

Die Wirksamkeit der getesteten Pilze ist in hohem Maße von verschiedenen Infektionsparametern abhängig. Insbesondere die Virulenzeigenschaften der angewendeten Pilzstämmen, der Einfluß der Temperatur- und Feuchtigkeitsbedingungen sowie die Anfälligkeit der Wirtsinsekten bestimmen den Bekämpfungserfolg. Für die kommerzielle Nutzung ist die Untersuchung dieser Einflußfaktoren unabdingbar.

Entomopathogene Pilze sind häufig genetisch hoch variabel und ihre Virulenz nicht selten instabil. Das Auffinden von Pilzstämmen mit hoher Virulenz, die Virulenzsteigerung (z.B. durch Anzucht auf entsprechenden Nährböden) sowie Verfahren der Virulenzhaltung (z.B. durch entsprechende Lagerung, Formulierung oder Durchlaufen einer Wirtspassage) können einer Wirksamkeitsminderung entgegenwirken. In diesem Zusammenhang erscheint auch die gezielte Vorkultivierung der Isolate auf chitinhaltigen Nährböden einer weiteren Untersuchung wert.

Laboruntersuchungen zur Virulenz belegen für die Stämme *M. anisopliae* 110 und *B. bassiana* 56 gegenüber *P. interpunctella* unter lagerähnlichen Bedingungen eine hohe Wirksamkeit, wobei stadienbedingte Virulenzunterschiede zwischen den beiden Erregern nachweisbar sind. Die verringerte Wirksamkeit unter trockneren Bedingungen wird teilweise durch eine optimierte Anzucht ausgeglichen.

Einer weiteren Bearbeitung wert erscheinen Verbesserungen der Isolate durch gezielte Stammselektion und -zucht, insbesondere im Hinblick auf eine Langzeitwirkung unter trocknen Lagerbedingungen.

Untersuchungen zum Einfluß von Formulierungen bestätigen die positive Wirkung von ölhaltigen Bestandteilen auf die Infektiosität der Pilze unter trocknen Bedingungen. Unterschiede in der Wirksamkeit zwischen den einzelnen Entwicklungsstadien resultieren aus dem von der Oberflächenbeschaffenheit der Wirtstiere abhängigen Anhaftungsvermögen der Sporen. Zur Verbesserung der Pilzpräparate im Hinblick auf eine erhöhte Infektiosität unter lagerähnlichen Bedingungen sowie auf eine erhöhte Umweltpersistenz sind weitere Tests vorzunehmen, welche zusätzliche Formulierungsbestandteile beinhalten.

Unter dem Gesichtspunkt einer Verringerung der Fekundität von Dörrobstmottenweibchen muß die Inokulation der Pilze spätestens zum Zeitpunkt der Kopulation erfolgen. Zur Erzielung hoher Dezimierungsraten sind hohe Dosierungen erforderlich.

Die in Modellversuchen durchgeführten Einsatzerprobungen bestätigen eine ausreichende Wirksamkeit der eingesetzten Pilze gegenüber *P. interpunctella* nur bei Kombination verschiedener Behandlungsverfahren (z.B. Inokulation zum Zeitpunkt der Kopulation und nachfolgende Eiablage auf kontaminiertem Untergrund). Versuche in Mottenflugkäfigen mit behandeltem Verpackungsmaterial, die Verwendung von Pilz behandelten Brut- und Fraßblockstoffen sowie die Verwendung pheromonbeköderter Kontaminationsherde zeigen mögliche Einsatztechnologien auf.

Die Ergebnisse von Persistenzversuchen belegen für die getesteten Pilzsporen in Abhängigkeit von der verwendeten Formulierung eine Wirksamkeit für den Zeitraum von einer Lagerperiode. Zur Erzielung gleichbleibender Dezimierungseffekte ist eine entsprechend hohe Bemessung an Konidien für die Ausgangskontamination erforderlich.

Bevor der Einsatz entomopathogener Pilze gegen vorratsschädliche Insekten der Ordnung *Lepidoptera* empfohlen werden kann, müssen zur Unterlegung der Ergebnisse weitere praxisnahe Erprobungen durchgeführt werden, die vom Umfang her vollständige Läger erfassen und Vergleiche mit herkömmlichen Bekämpfungsmitteln zulassen. Einer weiteren Untersuchung wert erscheint außerdem die Prüfung der Pilzpräparate in Kombination mit chemischen Insektiziden.

8 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden anhand von Labor- und praxisnahen Flugversuchen die Möglichkeiten der biologischen Bekämpfung der Dörrobstmotte, *Plodia interpunctella* HÜBNER, und der Mehlmotte, *Ephestia kuehniella* (ZELLER), mit entomopathogenen Pilzen der Ordnung *Hyphomycetales* untersucht. Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

- Die verwendeten Pilzstämme wurden ursprünglich nicht aus vorratsschädlichen Motten isoliert. Dennoch konnte eine Pathogenität gegenüber *E. kuehniella* und *P. interpunctella* bei der Mehrzahl der getesteten Pilzstämme nachgewiesen werden. Lediglich *Beauveria bassiana* 102 war nicht pathogen.
- Eine hohe Virulenz ist eine wesentliche Voraussetzung für die Auswahl entomopathogener Pilze zur Schädlingsbekämpfung. Unter Laborbedingungen vorgenommene Untersuchungen zum Virulenzverhalten beinhalteten auch Versuche zum Einfluß der Temperatur- und Luftfeuchtigkeitsbedingungen sowie des Ernährungszustandes der Pilze.
Die Virulenz der einzelnen Pilzstämme war wirtsabhängig und konnte anhand der Mortalitätsraten sowie der Mortalitätskurven nachgewiesen werden. *B. bassiana* 56, *Metarhizium anisopliae* 110 und *Paecilomyces fumosoroseus* 10 waren am virulentesten gegenüber *P. interpunctella*. Gegenüber *E. kuehniella* zeigten *Metarhizium anisopliae* 73, *P. fumosoroseus* 10 und *Paecilomyces farinosus* 34 die höchste Virulenz.
- Anhand der Keimraten und der Keimungsgeschwindigkeit konnten für sämtliche Pilzstämme hohe Temperaturansprüche nachgewiesen werden. Neben temperaturbedingten Unterschieden im Keimverhalten der einzelnen Pilzstämme wurden auch Differenzen zwischen den Pilzstämmen aufgezeigt. Am schnellsten keimten die beiden *Metarhizium*-Stämme. Bei 25°C betrugen die TG₅₀ von *M. anisopliae* 73 und von *M. anisopliae* 110 etwa 10 Stunden.
- *In vivo*-Tests zum Einfluß der relativen Luftfeuchtigkeit auf die Virulenz der Pilze bestätigen für die Mehrzahl der getesteten Stämme eine grundsätzlich hohe Abhängigkeit von einer hohen Umgebungsfeuchtigkeit. Der Rückgang der Virulenz bei verringerter Luft-

feuchtigkeit war bei weniger virulenten Pilzstämmen sowie gegenüber der weniger anfälligen Mehlmotte erheblicher.

Darüber hinaus führte die Anzucht auf verschiedenen Nährböden bei sämtlichen Pilzstämmen zu veränderten Virulenzen.

- In Infektionsversuchen bei unterschiedlich alten *P. interpunctella* wurde eine unterschiedliche Infektionsbereitschaft der verschiedenen Entwicklungsstadien ermittelt. Die larvale Entwicklungsphase ging mit einer fortschreitenden Abnahme der Anfälligkeit gegenüber sämtlichen Pilzstämmen einher. Die Anfälligkeit der Eier hing wesentlich von der Inokulumdichte und der Inkubationstemperatur ab.
- Unterschiede zwischen den einzelnen Entwicklungsstadien zeigten sich auch hinsichtlich der Wirksamkeit unterschiedlich formulierter Konidienpräparate. Während gegenüber den Imagines von *P. interpunctella* als Laktose - Konidienstaub formulierte Pilzpräparate am wirksamsten waren, verursachte die Ölformulierung die höchsten Mortalitätsraten bei Larven des L₁- und L₅-Stadiums. Der Vorteil der Ölformulierung war besonders bei einer Verringerung der relativen Luftfeuchtigkeit von 96% auf die in Lägern anzutreffende Feuchtigkeit von 76% ersichtlich. Da die Ölbestandteile ebenfalls Insekten tötende Eigenschaften aufweisen, kam es zu synergistischen Effekten.
- Der Einfluß der Formulierung konnte auch anhand von Untersuchungen zur Lagerfähigkeit und Umweltpersistenz der Sporen nachgewiesen werden. Insbesondere in Wasser formulierte Konidien besitzen eine geringe Lagerfähigkeit. Nach erfolgter Applikation kam es bereits nach 10 bzw. 11 Monaten (für *B. bassiana* 56 respektive *M. anisopliae* 110) zum vollständigen Verlust der Keimfähigkeit. Die höchste Persistenz trat für *M. anisopliae* 110 bei der Ölformulierung und dem Laktose- Konidienstaub auf. Für *B. bassiana* 56 zeigten auch reine Konidien ein gutes Persistenzverhalten. Unter lagerähnlichen Bedingungen beträgt die Keimfähigkeit der applizierten Konidien in Abhängigkeit vom Pilzstamm und von der Formulierung nach 12 Monaten zwischen 33% und 48%.
- In Modellversuchen konnte die Wirkung einer zum Zeitpunkt der Kopulation von *P. interpunctella* erfolgten Inokulation auf die Fekundität der Weibchen sowie der anschließenden

Eiablage auf Pilz kontaminiertem Untergrund bestimmt werden. Die sukzessive Behandlung von kopulierenden Weibchen, der abgelegten Eier und schlüpfenden Eilarven führte zu einer erheblichen Reduzierung der Nachkommenschaft. Für *M. anisopliae* 110 bzw. *B. bassiana* 56 wurde im Vergleich zur unbehandelten Kontrolle eine Verminderung der überlebenden Larven des L₁-Stadiums um 92 respektive 93% erreicht.

- In Gefäßversuchen wurde die Wirkung einer Pilzbehandlung nach Applikation der Konidien auf die Brutsubstratoberfläche sowie nach Beimischung der Konidien zum Brutsubstrat ermittelt. Durch die Oberflächenbehandlung von Brutsubstrat verringerte sich im Vergleich zur Kontrollvariante der Anteil geschlüpfter Imagines in Abhängigkeit vom Pilzstamm um 40 - 52%. Darüber hinaus wurden aufgrund nachträglicher Infektionen bei geschlüpften Faltern auch Auswirkungen auf die Nachfolgegeneration erzielt. Die Durchmischung des Brutsubstrates mit Pilzsporen führte in Abhängigkeit vom Pilzstamm und Substratgröße zu Wirkungsgraden zwischen 60 und 84%.
- Einsatzerprobungen erfolgten unter lagerähnlichen Bedingungen in Mottenflugkäfigen. Für eine praktische Nutzung wurden als mögliche Technologien die Kontamination von Verpackungen, die Behandlung von Fraß- bzw. Brutsubstrat unter Ausnutzung deren Lockwirkung sowie die Verwendung pheromonbeköderter Kontaminationsherde untersucht. Herausgestellt werden konnte, daß für nachhaltige kurative Bekämpfungserfolge durch entomopathogene Pilze die Dichte von *P. interpunctella* im Lager gering sein muß. Die Behandlung von Verpackungsmaterial ist wirkungsvoll, wenn die verwendeten Verpackungen einen hohen mechanischen Schutz vor einem Mottenbefall bieten.
- Die Verwendung von pheromonbeköderten Kontaminationsherden führte bei über 50% der Weibchen während der Kopulation zur Inokulation und kann somit in Kombination mit weiteren Einsatzztechnologien die Effizienz einer Anwendung entomopathogener Pilze im Vorratsschutz erhöhen.

9 Literaturverzeichnis

- ADANE, K., MOORE, D. und ARCHER, S. A. (1996). Preliminary studies on the use of *Beauveria bassiana* to control *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) in the laboratory. J. stored prod. Res. 32: 105-113.
- ADLER, V. E. (1960): Effects of low temperatures on the eggs of the Angoumois grain moth, the Indian-meal moth and the confused flour beetle. J. Econ. Entomol. 53: 973-974.
- AL -AIDROOS, K. und ROBERTS, D. W. (1978). Mutants of *Metarhizium anisopliae* with increased virulence toward mosquito larvae. Can. J. Genet. Cytol. 20: 211-219.
- AL -AIDROOS, K. und SEFERT, A. M. (1980). Polysaccharide and protein degradation, germination and virulence against mosquitoes in the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. J. Invert. Pathol. 36: 29-34.
- ALLEE, L. L.; GOETTEL, M. S.; GOLDBERG, A.; WHITNEY, H. S. und ROBERTS, D. W. (1990). Infection by *Beauveria bassiana* of *Leptinotarsa decemlineata* larvae as a consequence of fecal contamination of the integument following per os inoculation. Mycopathologia 111: 17-24.
- ANONYM (1993). Pflanzenschutzmittel-Verzeichnis 1993 Teil 5 Vorratsschutz. Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Braunschweig. 96 S.
- ANONYM (1992). Methylbromid. Nachernteschutz Nachrichten, Nr. 9, Juli 1992, GTZ-Projekt für Nacherntefragen, Hamburg.
- BAJAN, C. und KMITOWA, K. (1972). The effect of entomogenous fungi *Paecilomyces farinosus* (Dicks.) Brown et Smith and *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. on the oviposition by *Leptinotarsa decemlineata* Say females, and on the survival of larvae. Ekol. Polish. 20: 423-432.
- BAJAN, C. und KMITOWA, K. (1973). The effect of the medium and temperature on the development of insect pathogenic fungi isolated from the Colorado beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say). Ekol. Polish. 21: 657-697.
- BARNES, G. L.; BOETHEL, D. J.; EIKENBARY, R. D.; CRISWELL, J. T. und GENTRY, G. R. (1975). Growth and sporulation of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* on media containing various peptone sources. J. Invert. Pathol. 25: 301-305.
- BATEMAN, R. P.; CARAY, M.; MOORE, D. und PRIOR, C. (1993). The enhanced infectivity of *Metarhizium flavoviride* in oil formulations to desert locusts at low humidities. Ann. Appl. Biol. 122: 145-152.
- BECK, D. (1996). Biologische Bekämpfung des Gefurchten Dickmaulrüßlers *Otiorhynchus sulcatus* F. (Coleoptera, Curculionidae) mit dem entomopathogenen Pilz *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. (Hyphomycetales, Moniliaceae) in Rosenkulturen unter Glas. Dissertation. Humboldt - Univ. Berlin, Landw. Gärt. Fak. 120 S.

- BELL, C. H. (1976). Factors governing the introduction of diapause in *Ephestia elutella* and *Plodia interpunctella*. *Physiol. Ent.* 1: 93-101.
- BELL, C. H. und WALKER, D. J. (1973). Diapause introduction in *Ephestia elutella* and *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera, Pyralidae) with a dawn-dusk lighting system. *J. stored Prod Res.* 9: 149-158.
- BERLINER, E. (1915). Über die Schlafsucht der Mehlmottenraupe (*Ephestia kuehniella*) und ihrem Erreger, *Bacillus thuringiensis* n.sp. *Z. angew. Entomol.* 2: 29-56.
- BIDCHODKA, M. J. und KCHATCHATOURIANS, G. G. (1990). Identification of *Beauveria bassiana* extracellular protease as a virulence factor in pathogenicity toward the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes*. *J. invert. Pathol.* 56: 362-370.
- BOUCIAS, D. G.; PENDLAND, J. C. und LATGE, J. P. (1988). Nonspecific factors involved in attachment of entomopathogenic Deuteromycetes to host insect cuticle. *Appl. Environ. Microbiol.* 54: 1795-1805.
- BÖYE, J.; BURDE, S.; KEIL, H.; LABORIUS, G. A. und SCHULZ, F. A. (1988). The possibilities for biologically integrated control of the larger grain borer (*Prostephanus truncatus* HORN) in Africa. *Proc. Regional African Workshop on the Containment and Control of Larger Grain Borer, Arusha, Tanzania, Report II*, 110-139.
- BRAASCH, H. (1972). Zum Auftreten der Kakaomotte (*Ephestia elutella* Hübner) und Dörrobstmotte (*Plodia interpunctella* Hübner) in Rohkakaolagern und Fabrikräumen der Süßwarenindustrie. *Arch. Pflanzenschutz* 8: 387-395.
- BREESE, M. H. (1960). The infestibility of stored paddy rice by *Sitophilus sasakii* (Tak.) and *Rhycterpertha dominica* (F.). *Bull. ent. Res.* 51: 599-630.
- BRINDLEY, T. A. (1930). The growth and development of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera) and *Tribolium confusum* Duval (Coleoptera) under controlled conditions of temperature and relative humidity. *Ann. entomol. Soc. Amer.* 23: 741-757.
- BUCHER, G. E. (1964). The regulation and control of insects by fungi. *Ann. Entomol. Soc. Quebec.* 9: 30-42.
- BÜCHI, R. (1992). Vergleich zwischen sechs verschiedenen Pheromonfallen bezüglich ihrer Fangleistung auf die Mehlmotte, *Ephestia kuehniella* Zeller. *Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz* 65: 7-11.
- BURDE, S. (1988). Mikrobielle Antagonisten von *Prostephanus truncatus* (Horn) (Col., Bostrichidae)- Grundlagen für eine Biotherapie im tropischen Vorratsschutz. Abschlußbericht, EG-STD 1, 97 S.
- BURDICK, B. (1993). Das Pflanzenschutzmittel Methylbromid zerstört die Ozonschicht. *Ökol. u. Landbau* 87: 35-36.
- BURKHOLDER, W. E. (1981). Biological suppression of stored - product insect pests. 391-399. In: G. C. PAPAVIZAS (Ed.): *Biological control in crop production*. Beltsville Agricul-

- tural Resarch Center Symposium Number 5. Allanheld, Osmum Totowa.
- BURKHOLDER, W. E. und DICKE, R. J. (1966). Evidence of sex pheromones in females of several species of Dermestidae. J. Econ. Entomol. 59: 540-543
- BURKHOLDER, W. E. und BOUSH, G. M. (1974). Pheromones in stored product insect trapping and pathogen dissemination. Bull. Organ. Eur. Mediterr. Prot. Plant. 4: 455-461.
- CAMPBELL, R. K.; BARNES, G. L.; CARTWRIGHT, B. O. und EIKENBARY, R. D. (1983). Growth and sporulation of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in a basal medium containing various carbohydrate sources. J. Invert. Pathol. 41: 117-121.
- CARRUTHERS, R. I.; FENG, Z.; ROBSON, S. D. und ROBERTS, D. W. (1985). Vive temperature-depending development of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetales) mycosis of the european corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae). J. Invert. Pathol. 46: 305-311.
- CARRUTHERS, R. I. und SOPER, R. S. (1987). Fungal diseases. 357-415. In: FUXA, J.R. und TANADA, Y.(Eds.): Insect diseases. New York John Willey and Sons.
- CERMÁKOVÁ, A. und SAMSINÁKOVÁ, A. (1960). Über den Mechanismus des Eindringens des Pilzes *Beauveria bassiana* VUILL. in die Larve von *Leptinotarsa decemlineata* SAY. Ceskoslov. Parasitol. 7: 231-236.
- CHAMPLIN, F. R. und GRULA, E. A. (1979). Noninvolvement of beauverizin in the entomopathogenicity of *Beauveria bassiana*. Appl. Environ. Microbiol. 37: 1122-1131.
- CLINE, L. D. (1970). Indian-meal moth egg hatch and subsequent larval survival after short exposures to low temperatures. J. Econ. Entomol. 63: 1081-1083.
- CLINE, L. D. und PRESS, J. W. (1990). Reduction in the almond moth (Lepidoptera: Pyralidae) infestations using commercial packaging of foods in combination with the parasitic wasp *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). J. Econ. Entomol. 83: 1110-1113.
- COGBURN, R. R. (1974). Domestic rice varieties; apparent resistance to rice weevils, lesser grain borers and Angoumois grain moths. Envir. Ent. 3: 681-685.
- COHEN, L. M. und RUSSEL, M. P. (1970). Some effects of rice varieties on the biology of the Angoumois grain moth, *Sitotroga cerealella*. Ant. ent. Soc. Am. 63: 930-931.
- COUCH, T. L. und IGNOFFO, C. M. (1981). Formulation of insect pathogens. In: BURGESS, H. D. (Ed.): Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980. Academic Press, London.
- DAOUST, R. A. und ROBERTS, D. W. (1983). Studies on the prolonged storage of *Metarhizium anisopliae* conidia: Effect of temperature and relative humidity on conidial viability and virulence against mosquitoes. J. Invert. Pathol. 41: 143-150.
- DAOUST, R. A.; WARD, M. D. und ROBERTS, D. W. (1983). Effect of formulations on the viability of *Metarhizium anisopliae* conidia. J. Invert. Pathol. 41: 151-160.

- DELMAS, J. C. (1973). Influence du lieu de la contamination tégumentaire sur le développement de la mycose à *Beauveria tenella* (DELACR.) Siemaszko (Fungi imperfecti) chez les larves du coléoptère *Melolontha melolontha* L. C.R. Acad. Sci. Paris. 277: 433-435.
- DIAMONDÉ, T. (1969). Contribution à l'étude du développement de la muscardine verte à *Metarhizium anisopliae* (METSCH) SOROKIN (Fungi imperfecti) des larves d'*Oryctes monoceros* Ol. (Coleoptère Scarabidae). Bulletin de l'I.F.A.N. 4: 1381-1405.
- DOBERSKI, J. W. (1981). Comparative laboratory studies on three fungal pathogens of elm bark beetle *Scolytus scolytus*: Effect of temperature and humidity on infection by *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces farinosus*. J. Invert. Pathol. 37: 195-200.
- DUNN, P. H. und MECHALAS, B. J. (1963). The potential of *Beauveria bassiana* (Balsamo, Vuill.) as microbial insecticide. J. Invert. Pathol. 5: 451-459.
- FARGUES, J. (1972). Etude des conditions d'infection des larves de doryphore *Leptinotarsa decemlineata* Say, par *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Fungi imperfecti). Entomophaga 17: 319-337.
- FARGUES, J. (1976). Spécificité des champignons entomopathogènes imparfaits (Hyphomycètes) pour les larves de coléoptères (Scarabaeidae et Chrysomelidae). Entomophaga. 21: 313-323.
- FARGUES, J. (1981). Spécificité des Hyphomycètes entomopathogènes et résistance interspécifique des larves d'insectes. Thèse doctorat de Sci. Université de Paris VI.
- FARGUES, J. und REMAUDIÈRE, G. (1977). Considerations of the specificity of entomopathogenic fungi. Mycopathologia. 62: 31.37.
- FARGUES, J.; ROBERT, P. H. und VEY, A. (1976). Rôle du tégument et de la défense cellulaire des coléoptères hôtes dans la spécificité des souches entomopathogènes de *Metarhizium anisopliae* (Fungi imperfecti). C. R. Hebd. Seances Acad. Sci. Ser. D. 282: 2223-2226.
- FARGUES, J. und RODRIGUEZ-RUEDA, D. (1980). Sensibilité des larves de *Spodoptera littorales* (Noctuidae) aux Hyphomycètes entomopathogènes *Nomuraea rileyi* et *Paecilomyces fumosoroseus*. Entomophaga 25: 43-54.
- FARGUES, J. und ROBERT, P. H. (1983a). Effects of passaging through scarabeid hosts on virulence and host specificity of two strains of two entomopathogenic hyphomycete *Metarhizium anisopliae*. Canadian J. Microbiol. 29: 576-583.
- FARGUES, J. und ROBERT, P. H. (1983b). Influence de l'antécédent nutritionnel sur la virulence de deux souches de l'hyphomycète entomopathogène *Metarhizium anisopliae*. Mycopathologia 81: 145-154.
- FARGUES, J.; REISINGER, O.; ROBERT, P. H. und AUBART, C. (1983). Biodegradation of entomopathogenic Hyphomycetes: Influence of clay coating on *Beauveria bassiana* blastospore survival in soil. J. Invert. Pathol. 41: 131-142.

- FENG, M. G.; POPRAWSKI, T. J. und KHACHATOURIANS; G. G. (1994). Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: Current states. *Biocontrol Science and Technology* 4: 3-34.
- FERRON, P. (1977). Influence of the relative humidity on the development of fungal infection caused by *Beauveria bassiana* (Fungi imperfecti; Moniliales) in imagines of *Acanthoscelides obtectus* (Col.:Bruchidae). *Entomophaga* 22: 393-396.
- FERRON, P. (1978). Biological control of insect pests by entomogenous fungi. *Ann. Rev. Entomol.* 23: 409-442.
- FERRON, P. (1981). Pest control by the fungi *Beauveria* and *Metarhizium*. 465-482. In: BURGESS, H. D (Ed.): *Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980*. Academic Press, London.
- FERRON, P. (1985). Fungal control. In: KERKUT, G. A. und GILBERTS, L. I. (Eds.): *Comprehensive insect physiology and pharmacology*. Vol. 12 Pergamon Press, Oxford.
- FERRON, P. und DIAMONDÉ, T. (1968). Sur la spécificité à l'égard des insectes de *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin (Fungi imperfecti), en fonction de l'origine des souches de champignon. *C. R. Acad. Sci. Paris*, 268: 331-332.
- FERRON, P.; HURPIN, B. und ROBERT, P. H. (1972). Sur la spécificité de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. *Entomophaga*. 17: 165-178.
- FERRON, P.; FARGUES, J. und RIBA, G. (1991). Fungi as microbial insecticides against pests. In: ARORA, R.; AJELO, S. und MUKERJIL, F. (Eds.): *Handbook of applied mycology*. Vol.2. Marcel Dekker New York.
- FOOTT, W. H. (1976). Use of fluorescent powders to monitor flight activities of adult *Glischrochilus quadrisignatus* (Coleoptera: Nitidulidae). *Can. Ent.* 108: 1041-1044.
- FRANZ, J. M. und KRIEG, A. (1982). *Biologische Schädlingsbekämpfung*. Verlag Paul Parey, Hamburg und Berlin. 252 S.
- FRÖHLICH, G. (1979). *Wörterbuch der Biologie. Phytopathologie und Pflanzenschutz*. Gustav Fischer Verlag Jena. 295 S.
- GABRIEL, B. P. (1959). Fungus infection of insects via the alimentary tract. *J. Insect Pathol.* 1: 319-330.
- GRAVESEN, S. (1979). Fungi as a cause of allergic disease. *Allergy* 34: 135-154.
- GUNNARSSON, S. G. S. (1988). Infection of *Schistocerca gregaria* by the fungus *Metarhizium anisopliae*: Cellular reactions in the integument studied by scanning electron and light microscopy. *J. Invertebr. Pathol.* 52: 9-17.
- HASSAN, A. A., HASSANEIN, M. H. und KAMEL, A. H. (1962). Biological studies on the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* Hbn. (Lepidoptera-Phycitidae). *Bull. Soc. ent. Egypte* 46: 233-3256.

- HAYDEN, T. P.; BIDCHODKA, M. J. und KHACHATOURIAN, G. G. (1992). Virulence of several entomopathogenic fungi, and host-passage strains of *Paecilomyces farinosus*, toward the Blackberry cereal aphid *Sitobion fragariae*. J. Econ. Entomol. 85: 205-240.
- HEALE, J. B.; ISAAC, J. E. und CHANDLER, D. (1991). Prospects for strain improvement in entomopathogenic fungi. Pestic Science. 26: 79-92.
- HLUCHY, M. und SAMSINÁKOVÁ, A. (1989). Comparative study on the susceptibility of adult *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) and larval *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) to the entomogenous fungus *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL.. J. Stored Prod. Res. 25: 61-64.
- HOPPE, T. (1981). Nahrungswahl, Eiablage und Entwicklung der Dörrobstmotte (*Plodia interpunctella* Hübner) an verschiedenen Rohstoffen und Fertigprodukten der Schokoladenindustrie. Zeitschrift für angewandte Entomologie 91: 170-178.
- HOWARD, D. C. (1984). The ability of *Prostephanus truncatus* to breed on different maize varieties. In: GASGA - Workshop on the Larger Grain Borer *Prostephanus truncatus* (HORN). Tropical Development Research Institute, Storage Department, Slough. Eschborn, FRG, 17-31.
- HUBER, J. (1958). Untersuchungen zur Physiologie insektentötender Pilze. Arch. Mikrobiol. 29: 257-276.
- HUNTER, K. D.; COLLIERS, S. und HOFFMANN, D. F. (1973). Effectiveness of a granulosis virus of the Indian meal moth as a protectant for stored inshell nuts: preliminary observations. J. Invertebr. Pathol. 22: 481.
- HUNTER, K. D.; COLLIERS, S. und HOFFMANN, D. F. (1975). Compatibility of malathion and the granulosis virus of the Indian meal moth. J. Invertebr. Pathol. 24: 389-390.
- IGNOFFO, C. M. (1985). Manipulating enzootic-epizootic diseases of arthropods. In: McCOY, M. A. und HERZOG, D. C. (Eds.): Biological control in agricultural integrated pest management systems. Academic Press New York. 589 S.
- IGNOFFO, C. M.; PUTTLER, B.; HOSTETTER, D. L. und DICKERSON, W. A. (1976). Susceptibility of the cabbage looper, *Trichoplusia ni*, and velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatilis*, to several isolates of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi*. J. Invertebr. Pathol. 28: 259-262.
- IGNOFFO, C. M. und HOSTETTER, D. L. (1977). Environmental stability of microbial insecticides. Misc. Publ. Entomol. Soc. Am. 10: 1-80.
- IGNOFFO, C. M.; GARCIA, C.; ALYOSHINA, O. A. und LAPPA, N. V. (1979). Laboratory and field studies with Boverin: a mycoinsecticidal preparation of *Beauveria bassiana* produces in Soviet Union. J. Econ. Entomol. 72: 562-565.
- IGNOFFO, C. M. und GARCIA, C. (1992). Influence of conidial color on inactivation of several entomogenous fungi (Hyphomycetes) by simulated sunlight. Env. Ent. 21: 913-917.

- JACKSON L. W.; HEALE, J. E. und HALL, R. A. (1985). Traits associated with virulence to the aphid *Macrosiphonella sanborni* in eighteen isolates of *Verticillium lecanii*. Ann. appl. Biol. 106: 39-48.
- JASSIM, H. K.; ABDULLAH, L. M. und ABD-AL-AHAD, I. (1983). Determination of the exact concentration of *Beauveria bassiana* (Vuill.) to control the larvae of the fig moth *Ephesia cautella* (Walk.) on stored dates in Iraq. Arab J. of Plant Prot. 6: 44-45.
- JOHNSON, D. E.; BROOKHART, G. L.; KRAMER, K. J.; BARNETT, B. D. und McGAUGHEY, W. H. (1990). Resistance to *Bacillus thuringiensis* by the Indian meal moth *Plodia interpunctella*: Comparison of midgut proteinase from susceptible and resistant larvae. J. Invertebr. Pathol. 55: 235-244.
- JONES, W. E.; GRACE, J. K. und TAMASHIRO, M. (1996). Virulence of seven isolates of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae). Environ. Entomol. 25: 481-487.
- KANAOKA, M. A.; ISOGAI, A.; MURAKOSHI, S.; SUZUKI, A. und TAMURA, S. (1978). Bassianolide, a new insecticidal cyclodepsipeptide from *Beauveria bassiana* and *Verticillium lecanii*. Agric. Biol. Chem. 42: 629-640.
- KATSURA, S. K. (1938). Inoculation of young cicada nymphs with spores of green muscardine disease. J. Econ. Entomol. 31: 124-125.
- KELLEN, W. R. und LINDENGREN, J. (1969). Host pathogen relationships of two previously undescribed microsporidia from the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* Hübner (Lep., Phycitidae) J. Invertebr. Pathol. 14: 328-335.
- KELLEN, W. R. und HOFFMANN, D. F. (1987). Laboratory studies on the dissemination of a granulosis virus by healthy adults of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). Environ. Entomol. 16: 1231-1234.
- KERWIN, J. L. (1983). Fatty acid regulations of the germination of *Erynia variabilis* conidia on adults and puparia of the lesser housefly, *Fannia canicularis*. Can. J. Microbiol. 30: 158-167.
- KHACHATOURIANS, G. G. (1991). Physiology and genetics of entomopathogenic fungi. In: ARORA, D. K.; AJELLO, L. und MUKERJI, K. G. (Eds.): Handbook of applied mycology, Vol.2. Marcel Dekker, Inc., New York . 613-663.
- KINSINGER, R. A. und McGAUGHEY, W. H. (1976). Stability of *Bacillus thuringiensis* and a granulosis virus of *Plodia interpunctella* on stored wheat. J. Econ. Entomol. 69: 149-154.
- KMITOWA, K. (1978). The effect of various culture media on growth and pathogenicity of entomogenous fungi. Pol. Ecol. Stud. 4: 3-46.
- KMITOWA, K. (1980). The effect of different amounts of nitrogenous compounds in the culture medium on the growth and pathogenicity of entomopathogenic fungi. Bull. Acad. Pol. Sci. 27: 949-953.

- KMITOWA, K.; BAJAN, C. und WOJCIECHOWSKA, M. (1977). Differences in the pathogenicity of entomopathogenic fungi from France and Poland. *Pol. Ecol. Stud.* 3: 115-121.
- KOIDSUMI, K. (1957). Antifungal action of cuticular lipids in insects. *J. Insect Physiol.* 1: 40-51.
- KRIEG, A. (1968). Über das Vorkommen verschiedener Varietäten von *Bacillus thuringiensis* in Deutschland. *Zentralbl. Bakteriol.* 207: 83-90.
- KRIEG, A. (1981). Über das Auftreten von *Bacillus thuringiensis* als Krankheitserreger von Mehlmotten (Phycitidae) mit einem Hinweis auf sein Vorkommen in Getreideprodukten. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* 33: 129-132.
- LAM, T. N. C.; GOETTEL, M. S. und SOARES, G. S. (1988). Host records for the entomopathogenic hyphomycete *Tolypocladium cylindrosporum*. *Florida Entomologist* 71: 86-89.
- LATCH, G. C. M. (1965). *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin strains in New Zealand and their possible use for controlling pasture-inhabiting insects. *N.Z.J. Agric. Res.* 8: 384-396.
- LATGÈ, J. P. (1975). Croissance et sporulation de 6 espèces d'Entomophthorales. 1. Influence de la nutrition carbonnée. *Entomophaga* 20: 201-207.
- LEHMENSICK, R. und LIEBERS, R. (1938). Beiträge zur Biologie der Mikrolipidopteren (Untersuchungen an *Plodia interpunctella* Hb.). *Zeitschrift für angewandte Entomologie* 24: 582-643.
- LEIBENGUTH, F. (1986). Genetics of the Flour Moth, *Ephestia kuehniella*. *Agricultural Zoology Reviews* 1: 39-72.
- LEOPOLDT, J.; SAMISNÁKOVÁ, A. und MISIKOVA, S. (1973). Enzymatic character of toxic substances released by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and their stimulation of their production. *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskrh.* 128: 31-41.
- LEPESME, P. (1938). Recherches sur une Aspergillose des Acridiens. *Bull. Soc. Hist. naturelle Afr. Nord.* 29: 372-384.
- LEVINSON, H. Z. und LEVINSON, A. R. (1985). Use of pheromone traps for the proper timing of fumigation in the storage environment. *Bull. OEPP* 15: 43-50.
- MAKARA, A. (1965). Insektizidanwendung im Vorratsschutz. In: EICHLER, W. (Eds.): *Handbuch der Insektenkunde*. Verlag Volk und Gesundheit Berlin. 210 S.
- MANIANIA, H. K. und FARGUES, J. (1984). Spécificité des hyphomycètes entomopathogènes pour les larves de Lépidoptères Noctuidae. *Entomophaga* 29: 451-464.
- MBATA, N. G. (1986). Studies on the susceptibility of groundnut varieties to infestation by *Plodia interpunctella* (HÜBNER) (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Stored. Prod. Res.* 23: 57-63.
- McCOY, W. C.; SAMSON, R. A. und BOUCIAS, D. G. (1985). Entomopathogenic fungi.

- In: IGNOFFO, C. M. und MANDAVA, N. B. (Eds.): CRC Handbook of natural pesticides Vol. V. CRC Press Inc. Boca Raton Florida, 241 S.
- McGAUGHEY, W. H. (1975). A granulosis virus for Indian meal moth control in stored wheat and corn. J. Econ. Entomol. 68: 346-348.
- McGAUGHEY, W. H. (1976). *Bacillus thuringiensis* for controlling three species of moths in stored grain. Can. Entomol. 108: 105-112.
- McGAUGHEY, W. H. (1978). Response of *Plodia interpunctella* and *Ephestia cautella* larvae to spores and parasporal crystals of *Bacillus thuringiensis*. J. Econ. Entomol. 71: 687-688.
- McGAUGHEY, W. H. (1980). *Bacillus thuringiensis* for moth control in stored wheat. Can. Entomol. 112: 327-331.
- McGAUGHEY, W. H. (1982). Evaluation of commercial formulations of *Bacillus thuringiensis* for control of the Indianmeal moth and almond moth (Lepidoptera: Pyralidae) in stored inshell peanuts. J. Econ. Entomol. 75: 754-757.
- McGAUGHEY, W. H. (1985). Insect resistance to the biological insecticide *Bacillus thuringiensis*. Science 229: 193-195.
- MICHEL, B. (1981). Recherches experimentales sur la pénétration des champignons pathogènes chez les insectes. Thèse 3-ème cycle. Université de Montpellier. 170 S.
- MILES, M. (1933). Observations on growth in larvae of *Plodia interpunctella* HÜBN.. Ann. Appl. Biol. 20: 297-307.
- MOORE, G. E. (1973). Pathogenicity of three entomogenous fungi to the southern pine beetle at various temperatures and humidities. Environmental Entomology 2: 54-58.
- MÜHLE, E. und WETZEL, T. (1990). Praktikum der Phytomedizin. S. Hirzel Verlag Leipzig. 275 S.
- MÜLLER-KÖGLER, E. (1965). Pilzkrankheiten bei Insekten. Verlag Paul Parey, Hamburg und Berlin. 444 S.
- MÜLLER-KÖGLER, E. (1967). Nebenwirkungen insektenpathogener Pilze auf Mensch und Wirbeltiere: Aktuelle fragen. Entomophaga 12: 429-441.
- MÜLLER-KÖGLER, E. und SAMSINAKOVA, A. K. A. (1969). Keimprozente und Keimungskurven der Konidien und submersgebildeter Blastosporen eines Stammes von *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Entomophaga 14: 369-382.
- MÜLLER-KÖGLER, E. und STEIN, W. (1970). Gewächshausversuche mit *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Zur Infektion von *Sitona lineatus* (L.) (Coleopt., Curcul.) im Boden. Z. angew. Ent. 65: 59-76.
- MÜLLER-KÖGKER, E. und ZIMMERMANN, G. (1980). Zur Aufbewahrung entomo-

- pathogener Pilzkulturen. *Entomophaga* 25: 301-311.
- NORRIS, J. R. (1964). The classification of *Bacillus thuringiensis*. *J. appl. Bacteriol.* 27: 439-447.
- NWANZE, K. F. und HORBER, E. (1975). Laboratory techniques for screening cowpea for resistance *Callosobruchus maculatus* F.. *Envir. Ent.* 4: 415-419.
- PERKRUL, S. und GRULA, E. A. (1979). Mode of infection of the corn earworm, *Heliothis zea* by *Beauveria bassiana* by scanning electron microscopy. *J. Invertebr. Pathol.* 34: 238-241.
- PINNOCK, D. E. und BRANDT, R. J. (1981). A quantitative approach to the ecology of the use of pathogens for insect control. 655-665. In: BURGESS, H. D. (Ed.): *Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980*. Academic press London. 949 S.
- POPRAWSKI, T. J.; MARCHAL, M. und ROBERT, P. H. (1985). Comparative susceptibility of *Otiorhynchus sulcatus* and *Sitona lineatus* (Coleoptera: Curculionidae) early stages of five entomopathogenic hyphomycetes. *Env. Ent.* 14: 247-253.
- POPRAWSKI, T. J.; RIBA, G.; JONES, W. A. und AJOUN, A. (1988). Variation in iso-esterase profiles of geographical populations of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) isolated from *Sitona* weevils (Coleoptera: Curculionidae). *Envir. Entomol.* 17: 275-279.
- PRESS, J. W.; FLAHERTY, B. R. und ARBOGAST, R. T. (1977). Interactions among *Nemeritis canescens* (Hymenoptera: Ichneumonidae) *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae), and *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Kans. Entomol. Soc.* 50: 259-262.
- PRESS, J. W. und MULLEN, M. A. (1992). Potential of the weevil parasitoid, *Anisopteromalus calandrae* (Howard) (Hymenoptera: Pteromalidae) for protecting commercially packaged wheat from infection by the rice weevil *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *J. Kans. Ent. Soc.* 65: 348-351.
- PRIOR, C.; JOLLANDS, P. und PATOUREL, G. (1988). Infectivity of oil and water formulations of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) to the cocoa weevil pest *Pantorhytes plutus* (Coleoptera: Curculionidae). *J. Invertebr. Pathol.* 52: 66-72.
- PRIOR, C. und GREATHEAD, D. J. (1989). Biological control of locusts: the potential for the exploitation of pathogens. *FAO Plant Protection Bulletin* 37: 37-49.
- PURRINI, K. (1975). Über Mikrosporidien-Krankheiten einiger in Mühlen schädlicher Insekten in Jugoslawien. *Anz. Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz* 48: 104-106.
- QUIOT, J. M.; VEY, A. und VAGO, C. (1985). Effects of mycotoxins on invertebrate cells in vitro. *Adv. Cell. Culture* 4: 199-212.
- RAMOSKA, W. A. (1984). The influence of relative humidity on *Beauveria bassiana* infectivity and replication in the chinch bug, *Blissus leucopterus*. *J. Invertebr. Pathol.* 43:

389-397.

RAMOSKA, W. A. und TODD, T. (1985). Variations in efficacy and viability of *Beauveria bassiana* in the chinch bug as a result of feeding activity on selected host plants. Environ. Entomol. 14: 146-152.

RASSMANN, W. (1988). Insektizideinsatz bei Vorratsschädlingen. Gesunde Pflanzen 40: 39-40.

REICHMUTH, Ch. (1988). Zur Situation der Begasung im Vorratsschutz. Gesunde Pflanzen 40: 33-39.

REICHMUTH, Ch. (1993a). Bekämpfung von Vorratsschädlingen in der Müllerei - Stand und Ausblick. Allgemeiner Mühlenmarkt 94: 165-169.

REICHMUTH, Ch. (1993b). Drucktest zur Bestimmung der Begasungsfähigkeit von Gebäuden, Kammern oder abgeplanten Gütern bei der Schädlingsbekämpfung, mit Bemerkungen zur Begasungstechnik. Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft (Hrsg.) Merkblatt 71, Berlin 38 S.

REICHMUTH, Ch.; WOHLGEMUTH, R.; LEVINSON, A. R. und LEVINSON, H. Z. (1976). Untersuchungen über den Einsatz von pheromonbeköderten Klebefallen zur Bekämpfung von Motten im Vorratsschutz. Zeitschrift für angewandte Entomologie 82: 95-102.

REICHMUTH, Ch.; SCHMIDT, H. U.; LEVINSON, A. R. und LEVINSON, H. Z. (1978). Die Fähigkeit pheromonbeködeter Klebefallen für Speichermotten (*Ephesia elutella* Hbn.) in unterschiedlich dicht befallenen Getreidelägern. Zeitschrift für angewandte Entomologie 86: 205-212.

REICHMUTH, Ch.; SCHMIDT, H. U.; STRATIL, H.; LEVINSON, A. R. und LEVINSON, H. Z. (1981). Einsatz von pheromonbeköderten Klebefallen zur optimalen Terminierung von Mottenbekämpfungsmaßnahmen. Mitteilung der Deutschen Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie 2: 231-234.

RIBA, G.; KATAGIRI, K. und KAWAKAMI, K. (1982). Preliminary studies on the susceptibility of the silkworm *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) to some entomogenous hyphomycetes. Appl. Entomol. Zool. 17: 238-243.

RIBA, G. und MARCANDIER, S. (1984). Influence de l'humidité relative sur l'agressivité et la variabilité des souches de *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin et de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin, hyphomycètes pathogènes de la pyrale du maïs *Ostrinia nubilalis* Hbn. Agronomie 4: 189-194.

RIBA, G.; KEITA, A. und VINCENT, J. J. (1984). Sensibilité des larves de moustiques à différentes espèces d'Hyphomycètes entomopathogènes. Cah. ORSTOM Ser. Entomol. Med. Parasitol. 22: 271-276.

RIBA, G.; POBRAWSKI, T. und MANIANA, J. (1986). Isoesterase variability among geographical populations of *Beauveria bassiana* (Fungi imperfecti) isolated from Miridae. In: SAMSON, R. A.; VLAK, J. M. und PETERS, D. (Eds.): Fundamental and applied aspects

- of invertebrate pathology. Wageningen. S. 205-209.
- RIBA, G.; LOURDES de AQUINO, M. und ALVES RIBEIRO, S. (1987). Polymorphisme des souches brésiliennes de Hyphomycète entomopathogène *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin, inféodées à des Cercopidae. *Agronomie* 7: 763-768.
- ROBERTS, D. W. (1981). Toxins. In: BURGESS, H. D. (Eds.): Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980. Academic press London. 949 S.
- ROBERTS, D. W. und YENDOL, W. G. (1971). Use of fungi for microbial control of insects. In: BURGESS H. D. und HUSSEY N. W. (Eds.): Microbial control of insects and mites. Academic Press, London, 125 - 149.
- ROBERTS, D. W. und CAMPBELL, A. S. (1977). Stability of entomopathogenic fungi. *Misc. Publ. Entomol. Soc. Am.* 10: 19-76.
- ROBERTS, D. W. und HUMBER, R. A. (1981). Entomogenous fungi. In: COLE, G. T. und KENDRICK, B. (Eds.): The biology of conidial fungi, vol. II. 201-236.
- RODRIGUES-RUEDA, C. und FARGUES, J. (1983). Pathogenicity of entomopathogenic hyphomycetes, *Paecilomyces fumoso-roseus* and *Nomuraea rileyi* to eggs of noctuids, *Mamestra brassicae* and *Spodoptera littoralis*. *J. Invertebr. Pathol.* 36: 399-408.
- RODRIGUES-RUEDA, C. und PRATISSOLI, D. (1990). Pathogenicity of *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch. and *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorok. and its effect on the corn weevil and the bean beetle. *Anal. da Sociedade Entomologica do Brasil* 19: 302-306.
- RUSSEL, P. P. (1976). Resistance of commercial rice varieties to *Sitotroga cerealella* (OLIVIER) (Lepidoptera: Gelechiidae). *J. Stored Prod. Res.* 12: 105-110.
- SACHS, L. (1992). Angewandte Statistik. Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York London Paris Tokio Hong Kong Barcelona Budapest. 846 S.
- SAITO, T. und AOKI, J. (1983). Toxicity of free fatty acids on the larvae surface of two lepidopterous insects towards *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Paecilomyces fumoso-rosea* (Wize) Brown et Smith (Deuteromycetes: Moniliales). *Ann. Entomol. Zool.* 18: 225-234.
- SAMISNÁKOVÁ, A. und MISIKOVÁ, S. (1973). Enzyme activities in certain entomophagous representatives of Deuteromycetes (Moniliales) in relationship to their virulence. *Ceska Mycologie* 27: 55-60.
- SCHABEL, H. G. (1976). Green muscardine disease of *Hylobius pales* (Herbst) (Coleoptera: Curculionidae). *Z. angew. Entomol.* 81: 413-421.
- SCHABEL, H. G. (1978). Percutaneous infection of *Hylobius pales* by *Metarhizium anisopliae*. *J. Invertebr. Pathol.* 31: 180-184.
- SCHAERFFENBERG, B. (1952). Die Möglichkeiten der Maikäferbekämpfung mit Hilfe von Mykosen. I. *Beauveria densa*, ein Hauptparasit von *Melolontha sp.* *Anz. Schäd. Kund.* 25:

166-170.

- SCHAERFFENBERG, B. (1968). Untersuchungen über die Wirkung der insektentötenden Pilze *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. und *Metarhizium anisopliae* (METSCH.) SOROK. auf Warmblüter. Entomophaga 13: 175-182.
- SCHMIDT, H. U. (1982). Untersuchungen über die Eiablagetiefe der Dörrobstmotte *Plodia interpunctella* Hbn. in Roggen und Mais. Anz. Schädlingskde., Pflanzenschutz, Umweltschutz 55: 1-4.
- SCHMIDT, H. U. und WOHLGEMUTH, R. (1979). Ein praxisnaher Versuch zur Ermittlung der Dauerwirkung von *Bacillus thuringiensis* Berliner auf die Dörrobstmotte *Plodia interpunctella* Hbn. in einem Getreideschüttbodenlager. Anz. Schädlingskde., Pflanzenschutz, Umweltschutz 52: 52-56.
- SCHNEIDER, R. (1953). Untersuchungen über Feuchtigkeitsansprüche parasitischer Pilze. Phytopath. Z. 21: 63-78.
- SCHÖLLER, M. (1995). Auswahl geeigneter Trichogramma - Arten zur biologischen Bekämpfung von vorratsschädlichen Motten. D.G.a.a.E. Nachrichten 9: 13-14.
- SCHULZE, E. und GRAUPNER, H. (1960). Anleitung zum mikroskopisch-technischen Arbeiten in Biologie und Medizin. Akademische Verlagsgesellschaft Goest und Portig Leipzig. 191 S.
- SEARLE, T. und DOBERSKI, J. (1984). An investigation of the entomogenous fungus *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. as a potential biological control agent for *Orycaephilus surinamensis* (L.). J. Stored Prod. Res. 20: 17 - 23.
- SHADDUCK, J. A.; ROBERTS, D. W. und LAUSE, S. (1982). Mammalian safety tests of *Metarhizium anisopliae*: Preliminary results. Environ. Entomol. 11: 189-192.
- SHAPAS, T. J.; BURKHOLDER, W. E. und BOUSH, G. M. (1977). Population suppression of *Trogoderma glabrum* by using pheromone luring for protozoan pathogen dissemination. J. Econ. Entomol. 70: 469-474.
- SMITH, R. J. und GRULA, E. A. (1981). Nutritional requirements for conidial germination and hyphal growth of *Beauveria bassiana*. J. Invertebr. Pathol. 37: 222-230.
- SMITH, R. J. und GRULA, E. A. (1982). Toxic components on the larvae surface of the corn earworm (*Heliothis zea*) and their effects on germination and growth of *Beauveria bassiana*. J. Invertebr. Pathol. 36: 15-22.
- SODERHÄLL, K. und AXAJON, R. (1982). Effect of quinones and melanin on mycelial growth of *Aphanomyces* spp. and extracellular protease of *Aphanomyces astaci*, parasite on crayfish. J. Invertebr. Pathol. 39: 105.109.
- SODERSTROM, E. L. und ARMSTRONG, J. W. (1973). PP-511 (Pirimiphos-methyl-LSO) evaluated as a protectant for raisins and walnuts. J. Econ. Entmol. 66: 1305-1306.

- SPITLER, G. H. und HARTSELL, P. L. (1975). Pirimiphosmethyl as a protectant for Stored Inshell Almonds. J. Econ. Entomol. 68: 777-780.
- STAIB, F. (1988). Grundsätzliches zur Problematik eines Einsatzes von Pilzen im Pflanzenschutz. Bundesgesundhbl. 11: 423-426.
- STARNES, R. L.; LIU, C. L. und MARRONE, P. G. (1993). History, use, and future of microbial insecticides. Amer. Entomol. 39: 83-91.
- STEIN W. (1986). Vorratsschädlinge und Hausungeziefer. Verlag Eugen Ulmer; Stuttgart. 287 S.
- STEINBRINK, H. (1989). Gesundheitsschädlinge, Johann Ambrosius Barth Leipzig. 250 S.
- STEINHAUS, E. A. (1954). The effect of diseases on insect populations. Hildgardia 23: 197-261.
- STEINHAUS, E. A. (1958). Stress as a factor in insect diseases. Proc. Intern. Congr. Entomol. 10th Montreal 1956. 4: 725-730.
- STINNER, M. (1977). Efficacy of inundative release. Ann. Rev. Entomol. 22: 515-531.
- St.LEGER, R. J. (1993). Biology and mechanisms of insect-cuticle invasion by deuteromycete fungal pathogens. In: BECKAGE, N. F. ; THOMSON, S. N. und FEDERICI, B. A. (Eds.): Parasites and pathogens of insects. Vol. 2. Academic Press San Diego, New York, Boston, London, Tokio, Toronto. 294 S.
- St.LEGER, R. J.; COOPER, R. M. und CHARNLEY, A. K. (1986a). Cuticle-degrading enzymes of entomopathogenic fungi: cuticle degrading in vitro by enzymes from entomopathogens. J. Invertebr. Pathol. 47: 167-177.
- St.LEGER, R. J.; COOPER, R. M. und CHARNLEY, A. K. (1986b). Cuticle-degrading enzymes of entomopathogenic fungi: mechanisms of interactions between pathogen enzymes and insect cuticle. J. Invertebr. Pathol. 47: 295-302.
- St.LEGER, R. J.; COOPER, R. M. und CHARNLEY, A. K. (1986c). Cuticle-degrading enzymes of entomopathogenic fungi: regulation of production of chitinolytic enzymes. J. Gen. Microb. 132: 1509-1517.
- St.LEGER, R. J.; COOPER, R. M. und CHARNLEY, A. K. (1987). Characterization of cuticle degrading proteases produced by the entomopathogen *Metarhizium anisopliae*. Arch. Biochem. Biophys. 253: 221-232.
- STRATIL, H. und REICHMUTH, Ch. (1981). Mottenbefall an Süßwaren - Entwicklung eines Kühlverfahrens zur Bekämpfung von Eiern der Dörrobstmotte (*Plodia interpunctella*). Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin - Dahlem 205.
- STRÜMPPEL, H. (1969). Entwicklungszyklen einiger an Rohkakao schädlichen Insekten. Anzeiger für Schädlingskunde und Pflanzenschutz 42: 161-165.

- TAKAHASHI, F. (1973). An experimental study on the suppression and regulation of the population of *Cadra cautella* (WALKER) (Lepidoptera: Pyralidae) by the action of a parasitic wasp *Nemeritis canescens* GRAVENHORST (Hymenoptera: Ichneumonidae). Mem. Coll. Agric. Kyoto Univ. 104: 1-12.
- TAKEI, Y.; SHIMADA, A. und WATANABE, S. (1974). Volatila components of roasted almonds: basic fractions. Agr. Biol. Chem. 38: 645-648.
- TANADA, Y. und FUXA, J. R. (1987). The pathogen population. In: FUXA, J.R. und TANADA, Y. (Eds.): Epizootiology of insect diseases. Wiley. New York Chichester.
- TREMATERRA, P. (1988). Suppression of *Ephestia kuehniella* Zeller by using a mass-trapping method. Tecnica molitoria 18: 865-869.
- TREMATERRA, P. (1990). Population dynamic of *Ephestia kuehniella* Zeller in flour mill: three years of mass-trapping. Proc. V Int. Conf. Stored-Product Protection, Beaurdeau. S.
- TREMATERRA, P. und BATTAINI, F. (1987). Control of *Ephestia kuehniella* Zeller by mass-trapping. J. Appl. Ent. 104: 336-340.
- TREMATERRA, P. und CAPIZZI, A. (1991). Attracticide method in the control of *Ephestia kuehniella* Zeller : studies on effectiveness. J. Appl. Ent. 111: 451-456.
- VAIL, V. P.; HOFFMANN, D. F. und TEBBERS, J. S. (1993). Autodissemination of *Plodia interpunctella* (HÜBER) (Lepidoptera: Pyralidae) Granulosis virus by healthy adults. J. Stored Prod. Res. 29: 71-74.
- VANKOVA, J. und PURRINI, K. (1979). Natural epizootics caused by bacilli of the species *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus*. Z. Angew. Ent. 88: 216-221.
- VEY, A.; FARGUES, J. und ROBERT, P. H. (1982). Histological and ultrastructural studies of factors determining the specificity of pathotypes of the fungus *Metarhizium anisopliae* for Scarabeid larvae. Entomophaga 27: 387-397.
- VEY, A.; QUIOT, J. M. und PAIS, M. (1986). Toxémie d'origine fongique chez les invertébrés et ses conséquences cytotoxiques: Étude sur l'infection à *Metarhizium anisopliae* (Hyphomycetes, Moniliales) chez les lépidoptères et les coléoptères. C. R. Soc. Biol. 180: 105-112.
- WALSTAD, J. D.; ANDERSON, R. F. und STAMBAUGH, W. J. (1970). Effects of environmental conditions on two species of Muscardine fungi (*Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*). J. Invertebr. Pathol. 16: 221-226.
- WEBER, E. (1972a). Die parameterfreien Prüfverfahren. In: Grundriß der biologischen Statistik. Gustav Fischer Verlag Jena, 500-549.
- WEBER, E. (1972b). Probitanalyse. In: Grundriß der biologischen Statistik. Gustav Fischer Verlag Jena, 579-601.
- WEISER, J. (1982). Persistence of fungal insecticides: Influence of environmental factors and

- present and future applications. In: KURSTAK, E. (Ed.): Microbial and viral pesticides. Marcel Dekker INC. New York and Basel. 720 S.
- WELLING, M.; NACHTIGALL, G. und ZIMMERMANN, G. (1994). *Metarhizium* Spp. isolates from Madagascar: Morphology and effect of high temperature on growth and infectivity to the migratory locust, *Locusta migratoria*. Entomophaga 39: 351-361.
- WICK, M. (1990). Untersuchungen zur biologischen Bekämpfung von *Mycus persicae* (Sulz.) durch den entomopathogenen Pilz *Verticillium lecanii* (Zimm.) VIEGAS und die parasitoide Blattlauschlupfwespe *Aphidius matricariae* Hal. (Homoptera: Aphitidae; Hyphomycetales: Moniliaceae; Hymenoptera: Aphitidae). Diss. Humboldt Universität Berlin, Agrarwiss. Fakultät, 121 S.
- WILLIAMS, G. C. (1964). The life-history of the Indian-meal moth, *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lep. Phycitidae) in a warehouse in Britain and on different foods. Ann. appl. Biol. 53: 459-475.
- WINSTON, P. und BATES, D. H. (1960). Saturated solutions for the control of humidity in biological research. Ecology 41: 232 - 237.
- WOHLGEMUTH, R. (1976). Untersuchungen zur Bekämpfung des Mottenbefalls (*Plodia interpunctella* = Dörrobstmotte) an Süßwarenprodukten durch ionisierte Strahlen. Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz. 49: 25-30.
- WRAIGHT, S. P. und ROBERTS, D. W. (1987). Insect control efforts with fungi. Dev. Ind. Microbiol. 28: 77-87.
- ZACHARUK, R. Y. (1970a). Fine structure of the fungus *Metarhizium anisopliae* infecting three species of larval Elateridae (Coleoptera). I. Dormant and germinating conidia. J. Invertebr. Path. 15: 63-80.
- ZACHARUK, R. Y. (1970b). Fine structure of the fungus *Metarhizium anisopliae* infecting three species of larval Elateridae (Coleoptera). II. Conidial germ tubes and appressoria. J. Invertebr. Path. 15: 81-91.
- ZACHARUK, R. Y. (1970c). Fine structure of the fungus *Metarhizium anisopliae* infecting three species of larval Elateridae (Coleoptera). III. Penetration of the host integument. J. Invertebr. Path. 15: 372-396.
- ZACHER, F. (1950). Die Dörrobstmotte, *Plodia interpunctella* Hb. Ein gefährlicher Schädling der Lebensmittelindustrie, des Handels und des Haushaltes. Natur und Nahrung 23/24: 1-10.
- ZEBOLD, S. L.; WHISLER, H. C.; SHEMANCHUK, J. A. und TRAVLAND, L. B. (1979). Host specificity and penetration in the mosquito pathogen *Coelomomyces psorophorae*. Can. J. Bot. 57: 2766-2770.
- ZETTLER, J. L.; Mc Donald, L. L.; Redlinger, L. M. und Jones, R.D. (1973). *Plodia interpunctella* and *Cadra cautella* resistance in strains to Malathion and synergized Pyrethrins. J. Econ. Entomol. 66: 1049-1050.

- ZIMMERMANN, G.(1980). Pilze als Krankheitserreger bei Insekten und ihr Einsatz in der biologischen Schädlingsbekämpfung. Forum Mikrobiologie 3: 164-172.
- ZIMMERMANN, G.(1982a). Untersuchungen zur Wirkung von *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. auf Eier und schlüpfende Eilarven von *Otiorhynchus sulcatus* F. (Col., Curculionidae). Zeitschr. Ang. Entomol. 93: 476-482.
- ZIMMERMANN, G.(1982b). Effect of high temperature and sunlight on the viability of conidia of *Metarhizium anisopliae*. J. Invertebr. Pathol. 40: 36-40.
- ZIMMERMANN, G. (1985). Ein schlagkräftiger Pilz spart Insektizide - Ein neues Verfahren wirkt gegen den Gefurchten Dickmaulrüßler. Gärtnerbörse Gartenwelt 85: 294-295.
- ZIMMERMANN, G. (1986). Insect pathogenic fungi as pest control agents. In: FRANZ, J. M. (Eds.): Biological plant and health protection. Fortschritte der Zoologie, Bd. 32, 217-231, Fischer Verlag Stuttgart New York.
- ZIMMERMANN, G. (1992). *Metarhizium anisopliae* - ein entomopathogener Pilz. Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer.45: 113-128.
- ZIMMERMANN, G. (1994). *Metarhizium* spp. isolates from Madagascar: Morphology and effect of high temperature on growth and infectivity to the migratory locust, *Locusta migratoria*. Entomophaga 39: 351-361.

Anhang

Abb. A-1: Pilzstamm bedingte LT_{50} - Werte behandelter Imagines von *P. interpunctella* in Abhängigkeit von der verwendeten Sporenkonzentration der Tauchsuspension

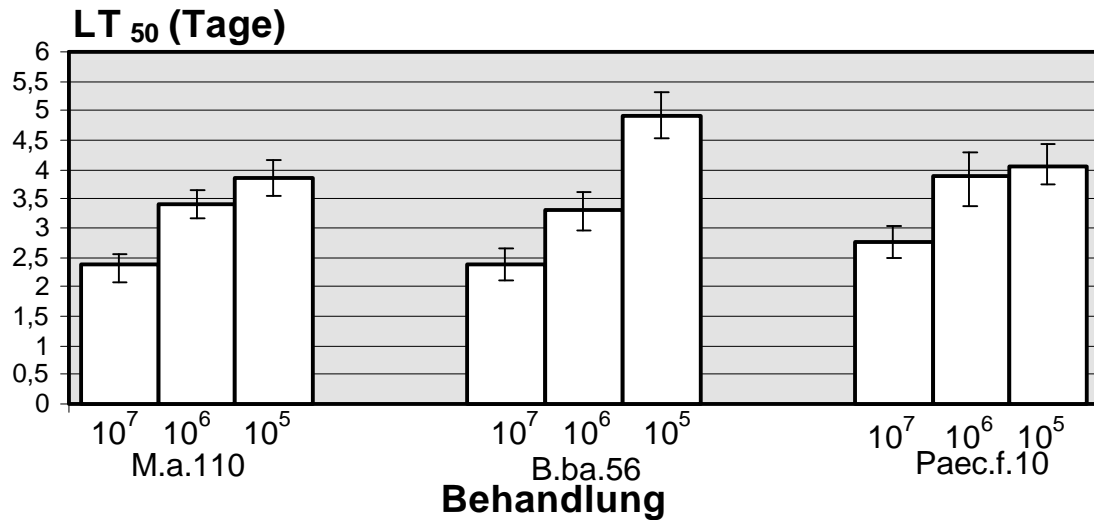
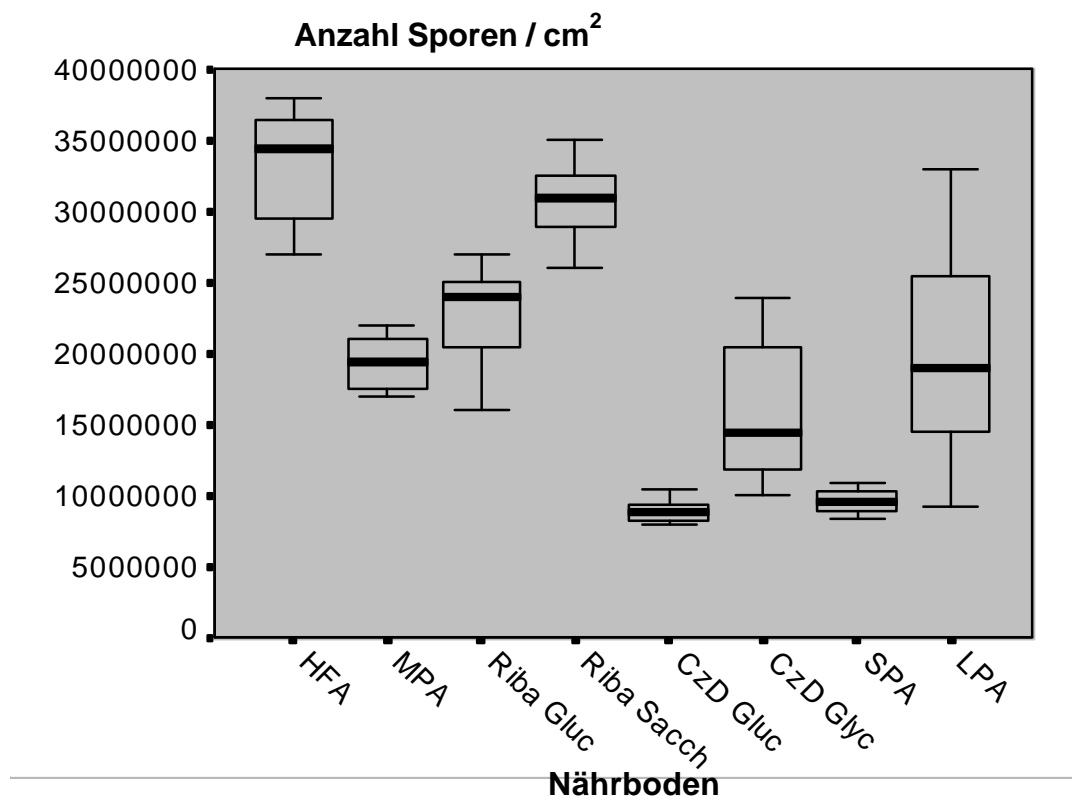
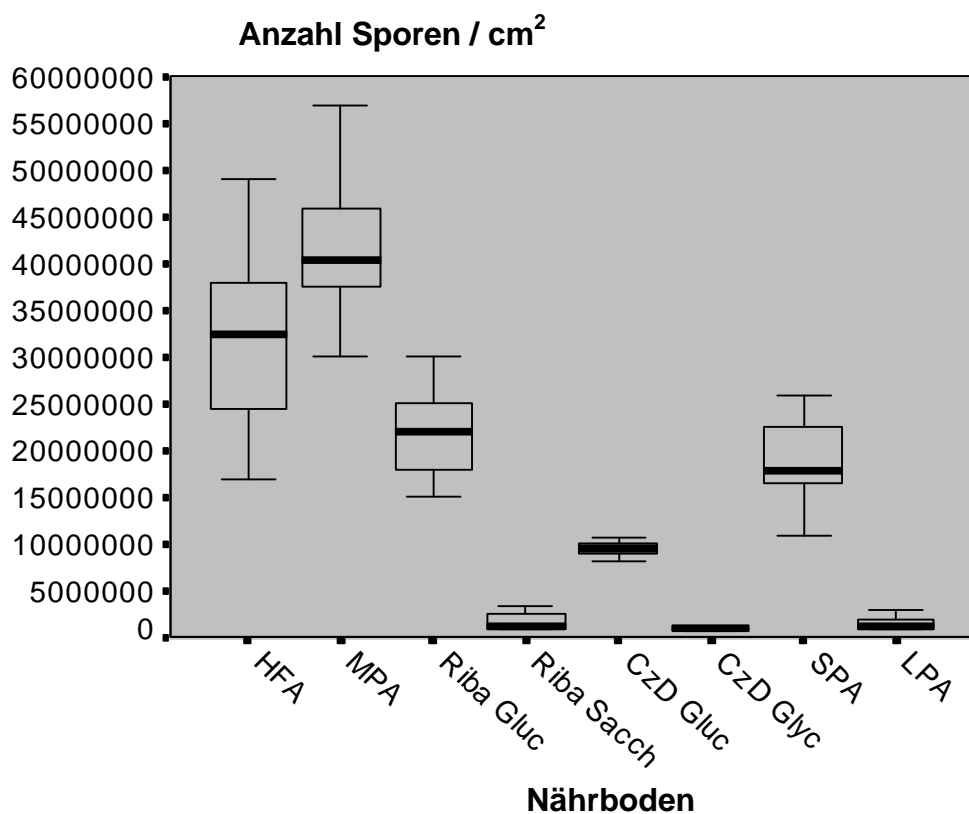


Abb. A-2 Empirische Verteilung der Sporulation entomopathogener Pilze in Abhängigkeit von der Nährbodenzusammensetzung

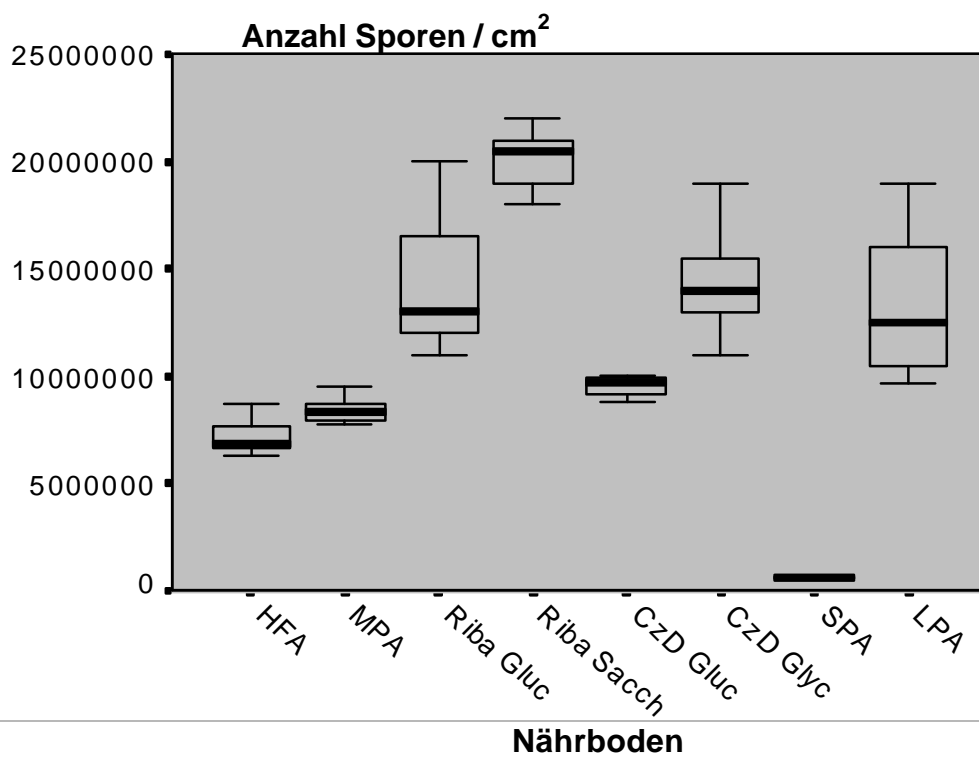
Metarhizium anisopliae 110



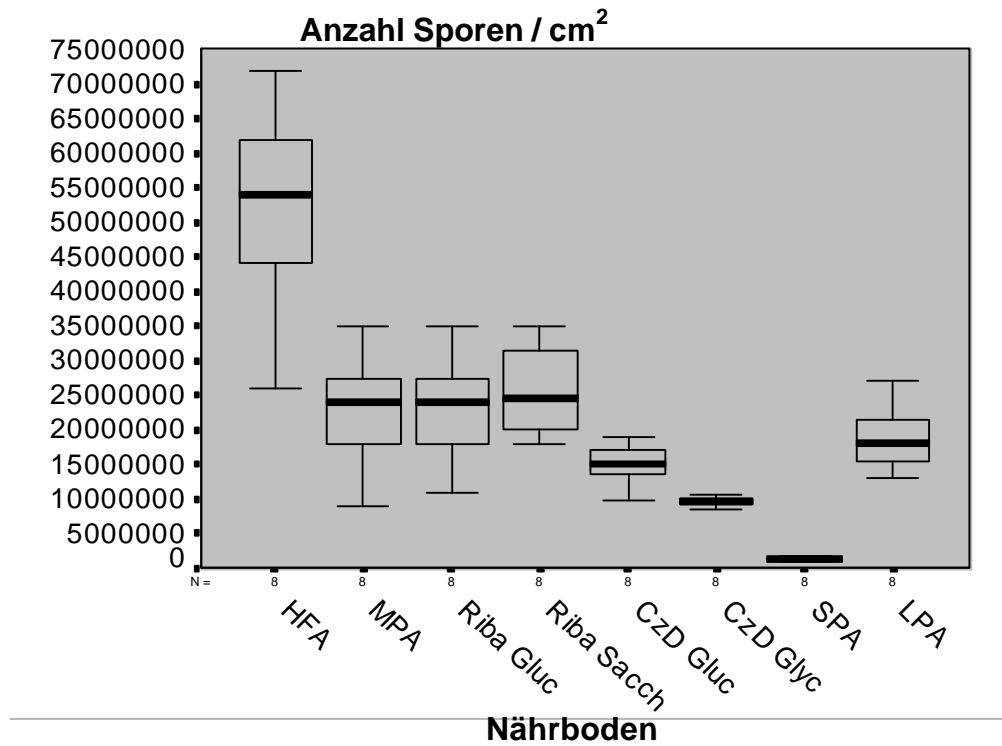
Metarhizium anisopliae 73



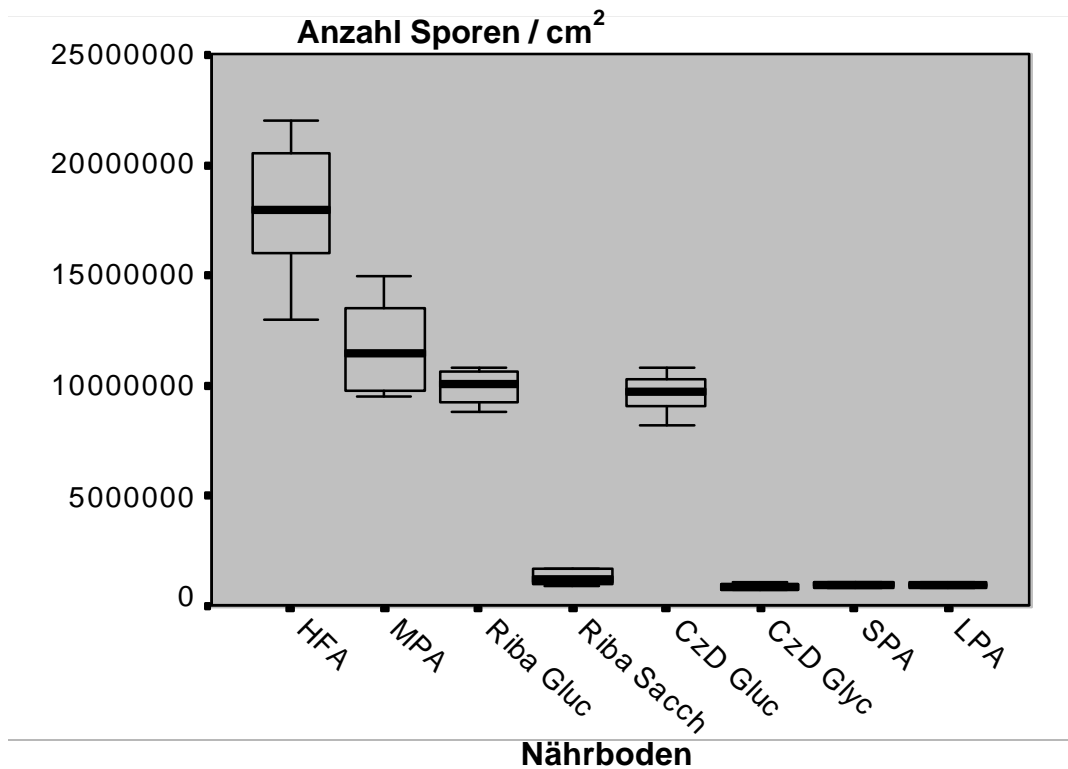
Beauveria bassiana 56



Paecilomyces fumosoroseus 10



Paecilomyces farinosus 34



unterste Linie: Min.; untere Kastenlinie: 25% Quartil; Linie im Kasten: Median;
obere Kastenlinie: 75% Quartil; obere Linie: Max.

Tab. A-1: Vergleich der Wirksamkeit unterschiedlich formulierter B.ba.56 Konidien hinsichtlich der von ihnen verursachten Mortalitätsraten bei Larven des L₁-Stadiums von *interpunctella* in Abhängigkeit von der Sporendosierung (Chi² - Test / 2 x 2 Kontingenztafelanalyse, $\alpha = 0,5$)

Behandlung		Wasser - Tween				Telmion				Laktose			
	Dosierung 2x	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
Wasser - Tween	10 ³ (23,9%)*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 ⁴ (38,5%)	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	10 ⁵ (55,2%)	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	10 ⁶ (73,9%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Telmion	10 ³ (31,2%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 ⁴ (62,5%)	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
	10 ⁵ (72,9%)	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
	10 ⁶ (84,4%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Laktose	10 ³ (20,8%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 ⁴ (41,6%)	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	10 ⁵ (54,2%)	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	10 ⁶ (70,8%)	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-

(* Mortalitätsraten; + signifikante Differenzen beim paarweisen Vergleich; - ohne Vergleich)

Tab. A-2: Vergleich der Wirksamkeit unterschiedlich formulierter M.a.110 Konidien hinsichtlich der von ihnen verursachten Mortalitätsraten bei Larven des L₁-Stadiums von *P. interpunctella* in Abhängigkeit von der Sporendosierung (Chi² - Test / 2 x 2 Kontingenztafelanalyse, $\alpha = 0,5$)

Behandlung		Wasser - Tween				Telmion				Laktose			
	Dosierung 2x	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
Wasser - Tween	10 ³ (23,9%)*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 ⁴ (27,1%)	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-
	10 ⁵ (54,2%)	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	10 ⁶ (78,1%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Telmion	10 ³ (28,1%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 ⁴ (49,0%)	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 ⁵ (77,1%)	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 ⁶ (85,4%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Laktose	10 ³ (25,0%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 ⁴ (42,7%)	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 ⁵ (64,6%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 ⁶ (79,2%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(* Mortalitätsraten; + signifikante Differenzen beim paarweisen Vergleich; - ohne Vergleich)

Tab. A-3 Vergleich der Wirksamkeit unterschiedlich formulierter B.ba.56 Konidien hinsichtlich der von ihnen verursachten Mortalitätsraten bei Larven des L₅-Stadiums von *interpunctella* in Abhängigkeit von der Sporendosierung (Chi² - Test / 2 x 2 Kontingenztafelanalyse, $\alpha = 0,5$)

Behandlung		Wasser - Tween				Telmion				Laktose			
	Dosierung 2x	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
Wasser - Tween	10 ³ (10,4%)*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 ⁴ (17,7%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 ⁵ (36,5%)	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
	10 ⁶ (53,1%)	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
Telmion	10 ³ (16,7%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 ⁴ (26,0%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 ⁵ (63,5%)	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 ⁶ (76,0%)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Laktose	10 ³ (14,6%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 ⁴ (29,2%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 ⁵ (53,1%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 ⁶ (69,8%)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-

(* Mortalitätsraten; + signifikante Differenzen beim paarweisen Vergleich; - ohne Vergleich)

Tab. A-4: Vergleich der Wirksamkeit unterschiedlich formulierter M.a.110 Konidien hinsichtlich der von ihnen verursachten Mortalitätsraten bei Larven des L₅-Stadiums von *P. interpunctella* in Abhängigkeit von der Sporendosierung (Chi² - Test / 2 x 2 Kontingenztafelanalyse, $\alpha = 0,5$)

Behandlung		Wasser - Tween				Telmion				Laktose			
	Dosierung 2x	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
Wasser - Tween	10 ³ (15,6%)*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 ⁴ (23,9%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 ⁵ (38,5%)	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	10 ⁶ (58,3%)	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Telmion	10 ³ (19,8%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 ⁴ (29,2%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 ⁵ (60,4%)	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
	10 ⁶ (77,1%)	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
Laktose	10 ³ (18,7%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 ⁴ (25,0%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 ⁵ (41,7%)	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
	10 ⁶ (61,4%)	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-

(* Mortalitätsraten; + signifikante Differenzen beim paarweisen Vergleich; - ohne Vergleich)

Tab.A-5: Vergleich der Wirksamkeit unterschiedlicher Pilze nach Oberflächenbehandlung von

Brutsubstrat hinsichtlich der Schlupfraten der Imagines von *P. interpunctella* (χ^2 - Test / 2 x 2 Kontingenztafelanalyse, $\alpha = 0,5$)

Behandlung	M.a.110	B.ba.56	Paec.f.10	Kontrolle
M.a.110	-	+	+	+
B.ba.56	+	-		+
Paec.f.10	+		-	+
Kontrolle	+	+	+	-

(+ signifikante Differenzen beim paarweisen Vergleich; - ohne Vergleich)

Tab.A-6: Vergleich der Wirksamkeit unterschiedlicher Pilze nach Oberflächenbehandlung von Brutsubstrat hinsichtlich der Verpilzungsrate geschlüpfter Falter von *P. interpunctella* (χ^2 - Test / 2 x 2 Kontingenztafelanalyse, $\alpha = 0,5$)

Behandlung	M.a.110	B.ba.56	Paec.f.10	Kontrolle
M.a.110	-		+	+
B.ba.56		-	+	+
Paec.f.10	+	+	-	+
Kontrolle	+	+	+	-

(+ signifikante Differenzen beim paarweisen Vergleich; - ohne Vergleich)

Erklärung

Ich erkläre, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel angefertigt habe.

Berlin, den 05.Februar 1998

Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. F. A. Schulz sehr herzlich bedanken. Er überließ mir dieses interessante und aktuelle Thema und war bis zu seinem Tod stets zu fruchtbaren Diskussionen während der Vorbereitung der experimentellen Arbeiten, ihrer Durchführung und Auswertung bereit.

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. H. Bochow für die Übernahme der wissenschaftlichen Betreuung, für das der Arbeit entgegengebrachte Interesse, die stetige Diskussionsbereitschaft und nicht zuletzt für die kritischen und sehr wertvollen Anregungen.

Weiterer Dank gebührt Herrn Prof. Dr. Ch. Reichmuth, Institut für Vorratsschutz der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin, für die Übernahme des Koreferats sowie seine Hilfe bei der Vorbereitung, Durchführung und Auswertung der Versuche und für die Unterstützung bei der Erstellung der Arbeit.

Herrn Dr. G. Zimmermann, Institut für biologischen Pflanzenschutz der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Darmstadt, danke ich für die Überlassung der Pilzstämmen sowie für Anregungen bei der Durchführung der Versuche.

Mein Dank gilt auch Frau Dr. Sermann und Herrn Dr. J. Helbig für methodische Hinweise sowie nutzbringende Diskussionen, die mir die Durchführung und Auswertung der Versuche erheblich erleichterten.

Herrn Dipl. Biol. M. Schöller danke ich für die Hilfe bei der Herstellung elektronenmikroskopischer Aufnahmen.

Besonderen Dank schulde ich natürlich auch allen Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen des Labors für die jederzeit gewährte Unterstützung.

Der Hans - Böckler - Stiftung in Düsseldorf sei für die finanzielle Unterstützung der Arbeit an dieser Stelle gedankt.